

THESIS

MUNICH

1966

**Zur Wirkungsweise
von antifibrillatorisch herzwirksamen
Alkaloiden an der glatten
Muskulatur des Darmes**

HERBERT ZINTZEN

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. K. Zipf

ZUR WIRKUNGSWEISE VON ANTIFIBRILLATORISCH
HERZWIRKSAMEN ALKALOIDEN AN DER GLATTEN
MUSKULATUR DES DARMES

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Herbert Zintzen

aus

Aachen

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. A. Mayr

Referent: Prof. Dr. Dr. h. c. K. Zipf

Tag der Promotion: 28. Juli 1966

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
METHODIK	2
ZUR AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE	3
a) Kompetitive Hemmung	6
b) Unkompetitive Hemmung	7
c) Nichtkompetitive Hemmung	7
ERGEBNISSE	10
a) Kompetitive Hemmstoffe	10
b) Nichtkompetitive Hemmstoffe	24
DISKUSSION	51
a) Kompetitive Hemmstoffe	51
b) Nichtkompetitive Hemmstoffe	54
ZUSAMMENFASSUNG	56
LITERATURVERZEICHNIS	57

E I N L E I T U N G

Ajmalin, eines der Alkaloide aus Rauwolfia⁺, hat vor einigen Jahren das Interesse der Kliniker gefunden, seit neuere pharmakologische Untersuchungen seine chinidinähnliche Herzwirkbarkeit bestätigten. Heute wird Ajmalin zusammen mit Chinidin bei der Behandlung von Herzarrhythmien angewendet. Der pharmakologische Wirkungsmechanismus, insbesondere die biochemische Wirkung dieser antifibrillatorisch herzwirksamen Alkaloide ist noch nicht endgültig geklärt worden.

Da an den Vorgängen der Impulsleitung Natrium- und Kalium-Ionen maßgeblich beteiligt sind, muß mit einem Eingriff in den Elektrolythaushalt der Herzmuskelzelle gerechnet werden. Derartige Effekte sind von PILLAT und HEISTRACHER (1964) beschrieben worden. Ihre Wirkung scheint aber auch mit der Funktion des Acetylcholins im Herzmuskel in Beziehung zu stehen. So haben BRISCOE u. BURN (1954) und HOLLAND (1957) einen Antagonismus zwischen Chinidin und Acetylcholin vermutet und die Chinidinwirkung mit einer Verdrängung des Acetylcholins von seinem Wirkungs-ort erklärt: dadurch würde die Ionenpermeabilität der Zellmembran wieder vermindert und die hochfrequente Eigenregung gehemmt.

Einen Antagonismus zwischen Ajmalin und Acetylcholin haben inzwischen auch CHATTERJEE u. DE (1963) gefunden. Sie haben an der glatten wie auch an der quergestreiften Skelettmuskulatur die Acetylcholinwirkung durch Ajmalin hemmen können. Die Autoren nehmen deshalb an, daß das Ajmalin auf cholinergische Rezeptoren wirkt, von denen es das Acetylcholin kompetitiv verdrängt.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Antagonismus zwischen dem Ajmalin und dem Acetylcholin an der glatten Muskulatur des Darmes näher untersucht und mit der Wirkung ähnlich wirkender Hemmstoffe verglichen.

⁺ Rauwolfia serpentina und andere Rauwolfiaarten

M E T H O D I K

Die Versuche wurden am isolierten Jejunum der Ratte durchgeführt. Für die Versuche wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet, das Jejunum herauspräpariert und mit Ringerlösung gespült. Anschließend wurde ein etwa 3 bis 5 cm langer Darmabschnitt an beiden Enden abgebunden und in ein mit Tyrodelösung gefülltes Organbad von 37° C eingehängt. Die Tyrodelösung hatte folgende Zusammensetzung: 8,0 g NaCl; 0,2 g KCl; 0,2 g CaCl₂; 0,1 g MgCl₂; 1,0 g NaH₂PO₄ und 1,0 g Glukose je 1000,0 ml Aqua dest. Die Lösung wurde mit Carbogen (95% O₂ und 5% CO₂) gesättigt.

Die Muskelkontraktion wurde mit Hilfe eines Schreibhebels auf eine Rußstrommel isotonisch aufgezeichnet. Die Belastung des Muskels betrug 1,5 g. Zur Auslösung der Kontraktionen wurden dem Organbad 2×10^{-8} M Acetylcholin in geometrisch aufsteigender Reihe bis zur maximalen Konzentration von 8192×10^{-8} M additiv zugesetzt (kumulative Dosis-Wirkungskurve nach van ROSSUM u. van den BRINK 1963).

Vor Beginn des Versuches wurde das Organ etwa 15 Minuten unter mehrmaligem Auswaschen an die Badeflüssigkeit adaptiert und anschließend mit einer mittleren Acetylcholindosis (32×10^{-8} M) auf seine Empfindlichkeit geprüft.

Zur Aufstellung der Dosis-Wirkungskurve wurden die Kontraktionshöhen gemessen und in relative Werte der maximalen Kontraktionshöhe umgerechnet. Nach Registrierung der ungehemmten Dosis-Wirkungsbeziehung wurde die Tyrodelösung im Badgefäß gewechselt und die vollständige Entspannung abgewartet. Darauf wurde der Hemmstoff dem Organbad zugesetzt und anschließend Acetylcholin in der oben angeführten Reihe erneut hinzugegeben.

An einem Darmpräparat wurden in der Regel drei verschiedene Hemmstoffkonzentrationen in je 5 bis 6 Versuchen auf ihre Hemmwirkung untersucht. Für jede Hemmstoffkonzentration wurde der arithmetische Mittelwert aus 10 Einzelwerten gebildet.

Auf ihre Hemmwirkung wurden die Substanzen Ajmalin, Iso-Ajmalin, Brom-Ajmalin, Acetyl-Ajmalin, N_B-Methyl-Ajmalin, Serpentin, Chinidin, Chinin, Procain, Procainamid, Papaverin und Atropin untersucht. Die Dosis-Wirkungskurven wurden nach LINEWEAVER u. BURK (1934) ausgewertet.

ZUR AUSWERTUNG

DER VERSUCHSERGEBNISSE

Der biochemische Begriff Rezeptor ist vor allem durch Paul EHRlich (1900) bekannt geworden, der pharmakologische Begriff eines Rezeptors stammt von LANGLEY (1905); er nahm an, daß ein Wirkstoff, z. B. Curare, auf eine spezifische rezeptive Substanz der Zelle wirken müsse, um eine pharmakologische Wirkung hervorzurufen. Bei der Untersuchung der Gesetzmäßigkeiten, die den Beziehungen zwischen der Dosis eines Wirkstoffes und seiner pharmakologischen Wirkung zugrunde liegen, war CLARK (1937) zu dem Ergebnis gekommen, daß den meisten beobachteten Dosis-Wirkungsbeziehungen Vorgänge zugrunde liegen, die sich durch Formulierungen darstellen lassen, welche grundsätzlich einer bimolekularen Reaktion entsprechen. In Analogie zu Enzym, Substrat und Reaktionsgeschwindigkeit setzte CLARK (1937) die Begriffe Rezeptor, Wirkstoff und pharmakologische Wirkung ein und nahm an, daß der Wirkstoff S sich mit seinem spezifischen Rezeptor R, in Analogie zum MICHAELIS-MENTEN-Komplex, reversibel nach dem Massenwirkungsgesetz verbindet

$$\frac{(R) \cdot (S)}{(RS)} = K_s$$

und eine Wirkung hervorruft, die der Konzentration des Wirkstoff-Rezeptorkomplexes (RS) direkt proportional ist.

Van ROSSUM (1963) und ARIENS u. SIMONIS (1964) übertrugen die Beziehungen zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Substratkonzentration aus der Enzymchemie auf die Muskelphysiologie. Sie beschrieben die Kontraktionsstärke V eines glatten Muskels (Jejunum der Ratte) als Funktion der applizierten AcetylcholinKonzentration (S) analog der Michaelis-Menten-Gleichung

$$v = V_{\max} \frac{(S)}{(S) + K_s} \quad (\text{MICHAELIS u. MENTEN 1913})$$

Aus der Gleichung geht hervor, daß die Kontraktionsstärke v bei konstanter

Rezeptormenge mit steigender Wirkstoffkonzentration (S) in Abhängigkeit von der Konstanten K_s proportional bis zu einem Endwert, bei dem die maximale Kontraktionsstärke $V_{\max}$ erreicht ist, zunehmen muß.

Die Dissoziationskonstante K_s des Wirkstoff-Rezeptorkomplexes hat die physikalische Dimension einer Konzentration; sie gibt die molare Wirkstoffkonzentration in Analogie zur ED_{50} an, bei der die Kontraktionsstärke v halb so groß wie die maximale Kontraktionsstärke $V_{\max}$ ist.

Die Konstante läßt sich auf einfache Weise nach der Gleichung von LINEWEAVER u. BURK (1934) ermitteln (Abb. 1); wenn beiderseits die reziproken Werte genommen werden, bekommt die Michaelis-Menten-Gleichung die Formulierung:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{(S)} \cdot \frac{K_s}{V_{\max}} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (\text{LINEWEAVER u. BURK 1934})$$

In diesem Fall ergibt nämlich die Zuordnung der reziproken Kontraktionsstärke $1/v$ (Ordinate) zur reziproken Wirkstoffkonzentration $1/(S)$ (Abszisse) eine Gerade.

Der Schnittpunkt der Geraden mit der Ordinate ermöglicht eine einfache Bestimmung des reziproken Wertes der maximalen Kontraktionsstärke $V_{\max}$; denn mit $1/(S) \rightarrow 0$ geht $1/v \rightarrow 1/V_{\max}$. Eine Verlängerung bis zum Schnittpunkt mit der Abszisse ermöglicht eine ebenso einfache Bestimmung des multiplikativen Faktors $K/V_{\max}$, denn mit $1/v \rightarrow 0$ geht $1/K_s \rightarrow 1/(S)$. Der Schnittpunkt liefert somit den reziproken Wert der Konstanten K_s , der die Affinität des Wirkstoffes zum Rezeptor bestimmt. Die Affinität ist dem Wert der Konstanten umgekehrt proportional.

Reaktionen zwischen einem Wirkstoff und seinem Rezeptor lassen sich durch Inhibitoren hemmen.

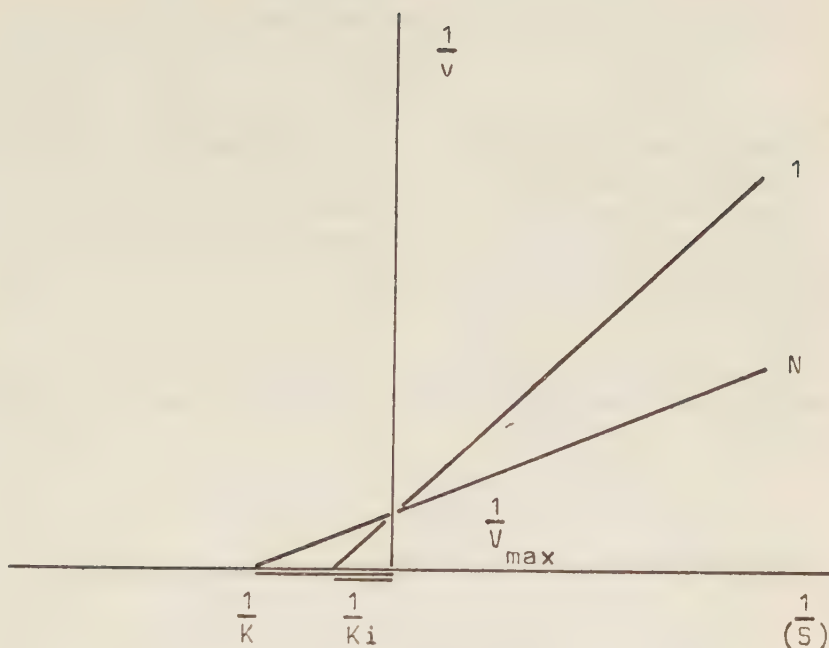


Abb. 1: Darstellung der Hemmungstypen im Diagramm nach LINEWEAVER u. BURK (aus NETTER 1959).

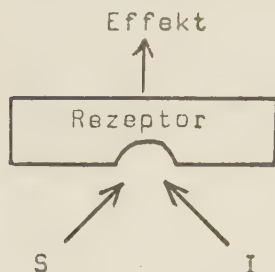
O r d i n a t e : Reziproke Größe der Kontraktions-
stärke: $\frac{1}{v}$

A b s z i s s e : Reziproke Wirkstoffkonzentration: $\frac{1}{(S)}$

Bei N: Verlauf der Geraden bei ungehemmter Acetyl-
cholinwirkung

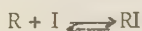
Bei I: Kompetitive Hemmung am Bindungsort

a) Kompetitive Hemmung:



Im Falle einer kompetitiven Hemmung konkurrieren Wirkstoff S und Inhibitor I um denselben Wirkungsort am Rezeptor R. In diesem Falle ist die Hemmwirkung der Hemmstoffkonzentration I direkt, bzw. der Wirkstoffkonzentration (S) umgekehrt proportional. Daraus folgt, daß sich die Hemmstoffwirkung durch Erhöhung der Wirkstoffkonzentration (S) abschwächen läßt.

Bei der kompetitiven Hemmung läuft die bimolekulare, reversible Grundreaktion



nach dem einfachen Michaelis-Menten-Schema ab.

$$\frac{(R) \cdot (I)}{(RI)} = K_I$$

Hierbei bedeutet K_I die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion. Die Hemmungskonstante K_I läßt sich aus dem Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse ebenfalls leicht ermitteln (Abb. 1). Denn mit $1/v \rightarrow 0$ geht in diesem Falle $1/(S) \rightarrow 1/K_I$. Die Größe

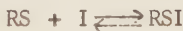
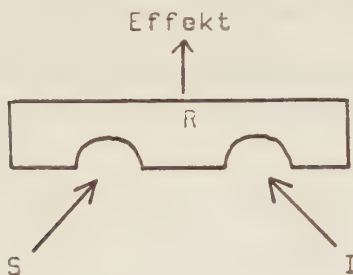
$$I = 1 + \frac{(I)}{K_I}$$

ist der Hemmungsfaktor, aus dem sich bei bekannter Hemmstoffkonzentration (I) die Konstante K_I berechnen läßt.

Da sich die kompetitive Hemmstoffwirkung durch fortlaufende Erhöhung der Wirkstoffkonzentration abschwächen und schließlich völlig aufheben läßt, ist die maximale Kontraktionsstärke bei sehr hoher Wirkstoffkonzentration nicht vermindert. Dementsprechend ist der Schnittpunkt auf der Ordinate

(in Abb. 1) nicht verändert. Lediglich der Anstieg der Geraden ist I-fach erhöht.

b) Unkompetitive Hemmung:



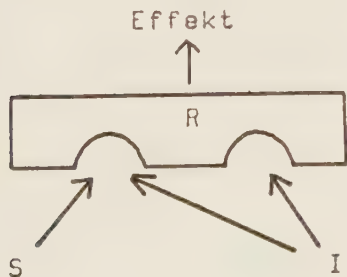
In diesem Falle konkurrieren Wirkstoff und Inhibitor nicht um die gleiche Rezeptorstelle, der Hemmstoff greift aber am Wirkstoff-Rezeptorkomplex an und vermindert konzentrationsabhängig den Effekt des Wirkstoffes an seinem Erfolgsorgan. Für die unkompetitive Hemmung läuft die Grundreaktion

nach dem einfachen Michaelis-Menten-Schema ab:

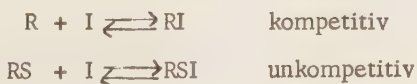
$$K_I = \frac{(RS) \cdot (I)}{(RSI)}$$

Da sich die Hemmstoffwirkung in diesem Falle durch Erhöhung der Wirkstoffkonzentration nicht abschwächen läßt, ist die maximale Kontraktionsstärke herabgesetzt.

c) nichtkompetitive Hemmung:

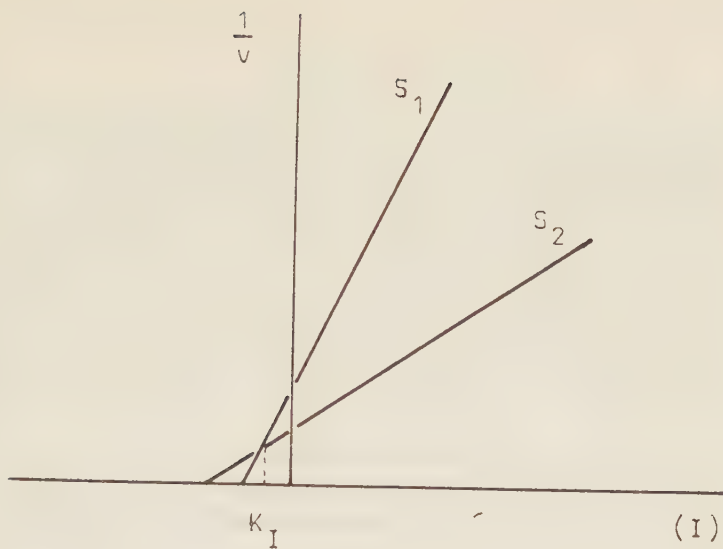


In einer nichtkompetitiven Hemmung konkurrieren Inhibitor und Wirkstoff um denselben Rezeptor. Der Hemmstoff greift aber auch am Wirkstoff-Rezeptorkomplex an. Für die nichtkompetitive Hemmung laufen somit zwei Grundreaktionen ab:

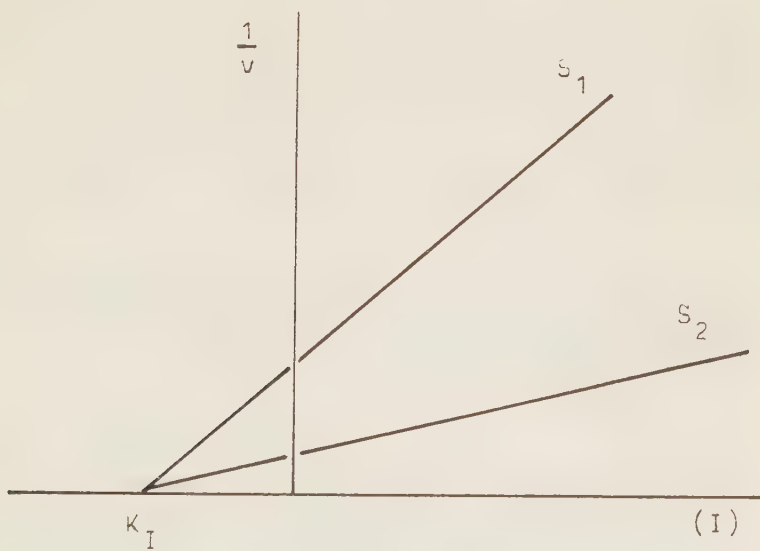


Je nach Affinität des Hemmstoffs zu seinem Wirkungsort verläuft die Hemmung zunächst unkompetitiv oder kompetitiv.

Zur Gewinnung der nichtkompetitiven Hemmungskonstanten hat sich nach DIXON (1953) folgendes Verfahren bewährt (Abb. 2): trägt man die reziproke Kontraktionsstärke $1/v$ der verschiedenen molaren Acetylcholin-konzentrationen (S_1 - S_n) gegen die molare Hemmstoffkonzentration (I) auf, dann ergeben sich Geraden, die für die verschiedenen Substratkonzentrationen verschiedene Neigungen besitzen und sich in einem Punkt links von der Ordinate schneiden. Der Schnittpunkt liegt bei $K_{I_1} = 1$.



a) kompetitive Hemmung



b) unkompetitive Hemmung

Abb. 2: Bestimmung von K_I nach DIXON (1953)

E R G E B N I S S E

a) **Kompetitive Hemmstoffe:** A t r o p i n wurde als Vergleichssubstanz in den Konzentrationen $1,25$ bis 10×10^{-9} M untersucht (Abb. 3 und Tab. 1). Atropin wurde in dem untersuchten Konzentrationsbereich vom Acetylcholin vollständig verdrängt. Dies geht auch aus Abb. 4 hervor, in der sich Normal- und Hemmungsgeraden in einem Punkt auf der Ordinate schneiden. Aus dem Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse ließ sich die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion mit $K_I = 3,5 \times 10^{-8}$ M bestimmen. Wie aus Tab. 2 hervorgeht, besitzt Atropin eine höhere Affinität zu den cholinergischen Rezeptoren des glatten Darmmuskels als Acetylcholin.

S e r p e n t i n wurde in den Konzentrationen $1,25$ bis 10×10^{-4} M untersucht. Serpentin wurde durch Acetylcholin vollständig verdrängt; deshalb ist ein rein kompetitiver Hemmungsmechanismus anzunehmen (Abb. 5 und Tab. 3). Aus dem Schnittpunkt der Geraden mit der Abszisse wurde die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion mit $K_I = 9,9 \times 10^{-6}$ M bestimmt. Wie aus Abb. 6 weiter hervorgeht, besitzen die Geraden keinen geradlinigen Verlauf, denn für jede Acetylcholinkonzentration (Abszisse) sind die Ordinatenwerte $1/v$ zu höheren Werten hin verschoben. Das bedeutet, daß bei niedrigen Acetylcholinkonzentrationen mit steigender Inhibitorkonzentration die Kontraktionen des Darmmuskels durch die Hemmstoffe stärker gehemmt werden, als auch dem kompetitiven Hemmungsmechanismus zu erwarten ist. Eine Erklärung mag dahin gehen, daß die cholinergischen Rezeptorstellen verhältnismäßig eng beieinander liegen. Bei höheren Hemmstoffkonzentrationen ist anzunehmen, daß der Hemmstoff, da er ein verhältnismäßig großes Molekül besitzt, bei der Besetzung einer Rezeptorstelle weitere Rezeptoren in der unmittelbaren Nachbarschaft noch mit überdeckt, weshalb die Hemmungsgröße eine höhere Hemmstoffkonzentration vortäuscht.

P r o c a i n und P r o c a i n a m i d wurden in Konzentrationen von 20 bis 80×10^{-4} M untersucht (Tab. 4 und 5). Procain und Procainamid ließen sich bis in die höchsten untersuchten Konzentrationen durch Acetylcholin vollständig verdrängen (Abb. 7 und 9). Ein kompetitiver Hemmungsmechanismus kann deshalb angenommen werden (Abb. 8 und 10). Für Procain errechnete sich die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion mit $K_I = 51,2 \times 10^{-6}$ M und für Procainamid die Konstante $K_I = 62,5 \times 10^{-6}$ M. Daraus ergibt sich eine verhältnismäßig sehr geringe Affinität zum Acetylcholinrezeptor (Tab. 2).

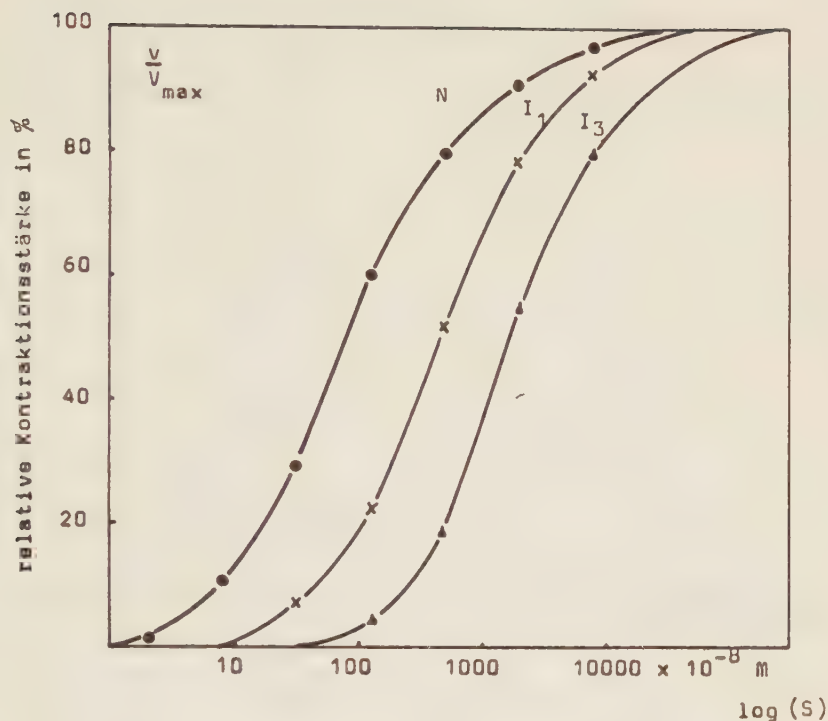


Abb. 3: Wirkung von Atropin: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin an Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I₁ $1,25 \times 10^{-9}$ M und bei I₃ 1×10^{-8} M Atropin.

A b s z i s s e : log der molaren Acetylcholinkonzentration (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

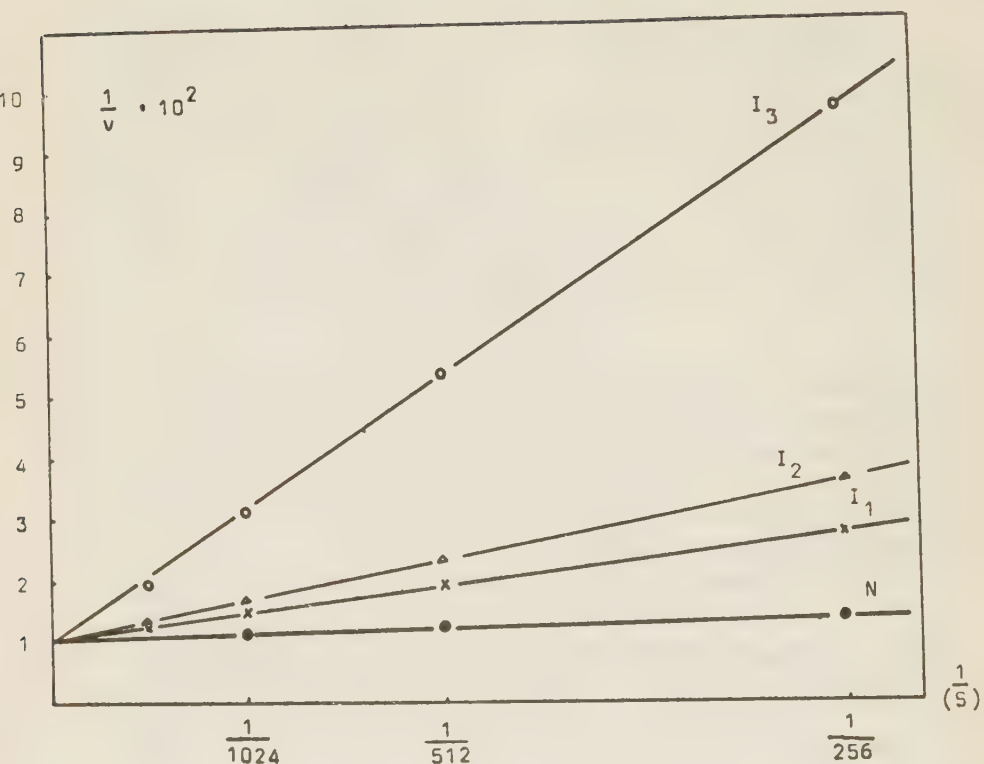


Abb. 4: Wirkung von Atropin: Reziproke Darstellung der Dosis-Wirkungs-kurve aus Abb. 3. N ist der Verlauf der Geraden bei ungehemmter Acetylcholinwirkung; bei I_1 bis I_3 1, 25; 2, 5 und 10 $\times 10^{-9}$ M Atropin.

A b s z i s s e : Reziproke Werte der molaren Acetylcholin-konzentrationen; $1/(S)$

O r d i n a t e : Reziproker Wert der relativen Kontraktionshöhe; $1/v$

Tab. 1: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f) unter der Einwirkung von Atropin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe				
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Atropin			
		$1,25 \times 10^{-9}$ M	$2,5 \times 10^{-9}$ M	5×10^{-9} M	10×10^{-9} M
4	$6 \pm 0,55$				
16	$18 \pm 0,25$				
64	$44 \pm 0,35$	$8 \pm 1,0$	$8 \pm 1,2$	$3 \pm 0,77$	$2 \pm 0,7$
256	$70 \pm 1,25$	$36 \pm 0,4$	$28 \pm 0,7$	$17 \pm 1,20$	$8 \pm 2,1$
1024	$85 \pm 2,45$	$65 \pm 2,8$	$61 \pm 1,3$	$54 \pm 1,20$	$36 \pm 2,2$
4096	$94 \pm 1,40$	$84 \pm 2,5$	$89 \pm 2,2$	$84 \pm 0,91$	$76 \pm 2,8$

Tab. 2: Kompetitive HemmstoffeDissoziationskonstanten K_I für die Rezeptor-Inhibitor-KomplexeDissoziationskonstante für den Acetylcholin-Rezeptor-Komplex
 $K_s = 79,5 \times 10^{-8} \text{ M}$

Inhibitor	K_I	Affinität = $\frac{1}{K_I}$ Acetylcholin = 100
Atropin	$0,03 \times 10^{-6}$	2267,0
Serpentin	$9,9 \times 10^{-6}$	7,9
Procain	$51,2 \times 10^{-6}$	1,5
Procainamid	$62,5 \times 10^{-6}$	1,2

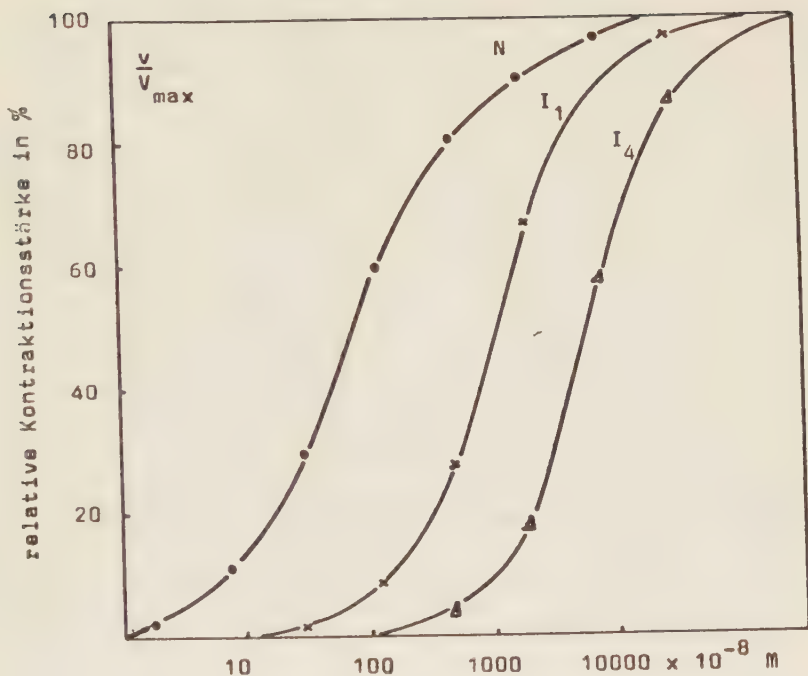


Abb. 5: Wirkung von Serpentin; Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I_1 $1,25 \times 10^{-4}$ M und bei I_4 10×10^{-4} M Serpentin.

A b s z i s s e : log der molaren Acetylcholinkonzentration (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

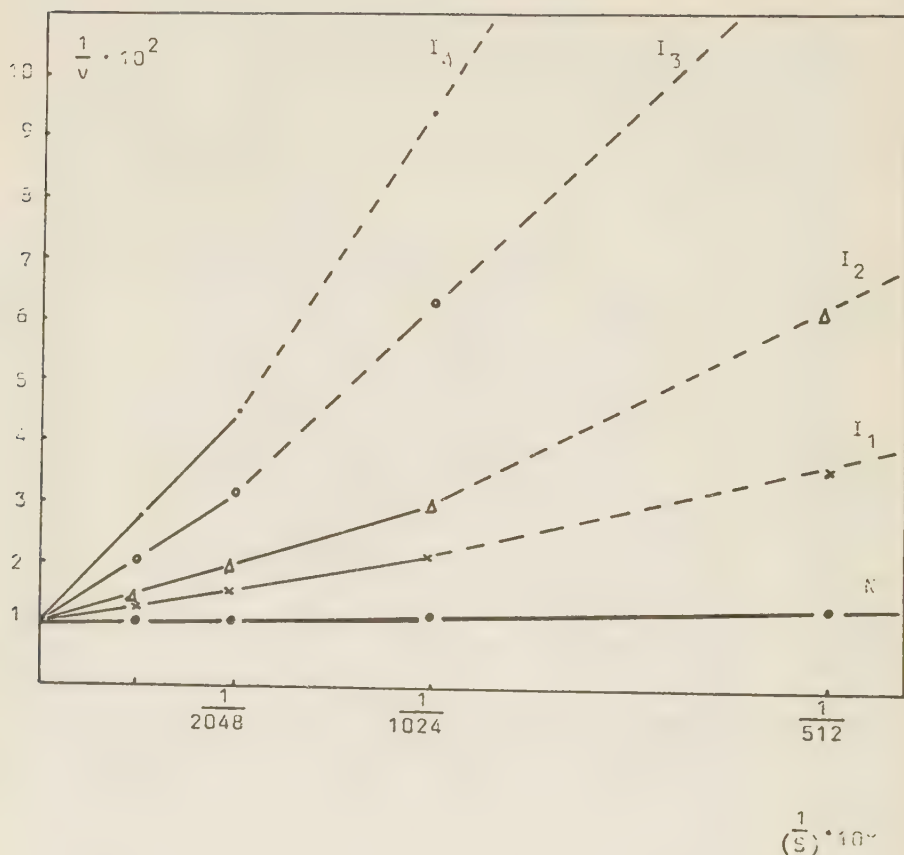


Abb. 6: Wirkung von Serpentin: Reziproke Darstellung der Dosis-Wirkungskurve aus Abb. 5. N ist der Verlauf der Geraden bei ungehemmter Acetylcholinwirkung; bei I_1 bis I_4 $1, 2, 5, 10 \times 10^{-4}$ M Serpentin.

A b s z i s s e : Reziproke Werte der molaren Acetylcholin-konzentrationen: $1/(S)$

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktions-höhe: $1/v$

Tab. 3: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f) unter der Einwirkung von Serpentin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe				
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Serpentin			10×10^{-4} M
		$1,25 \times 10^{-4}$ M	$2,5 \times 10^{-4}$ M	5×10^{-4} M	
4	$6 \pm 0,55$				
16	$18 \pm 0,25$				
64	$44 \pm 0,35$	$3 \pm 0,74$			
256	$70 \pm 1,25$	$13 \pm 1,1$	$5 \pm 0,7$	$1 \pm 0,69$	
1024	$85 \pm 2,45$	$47 \pm 1,8$	$32 \pm 1,5$	$14 \pm 1,0$	$5 \pm 0,64$
4096	$94 \pm 1,4$	$85 \pm 1,2$	$81 \pm 2,5$	$59 \pm 2,3$	$36 \pm 1,08$

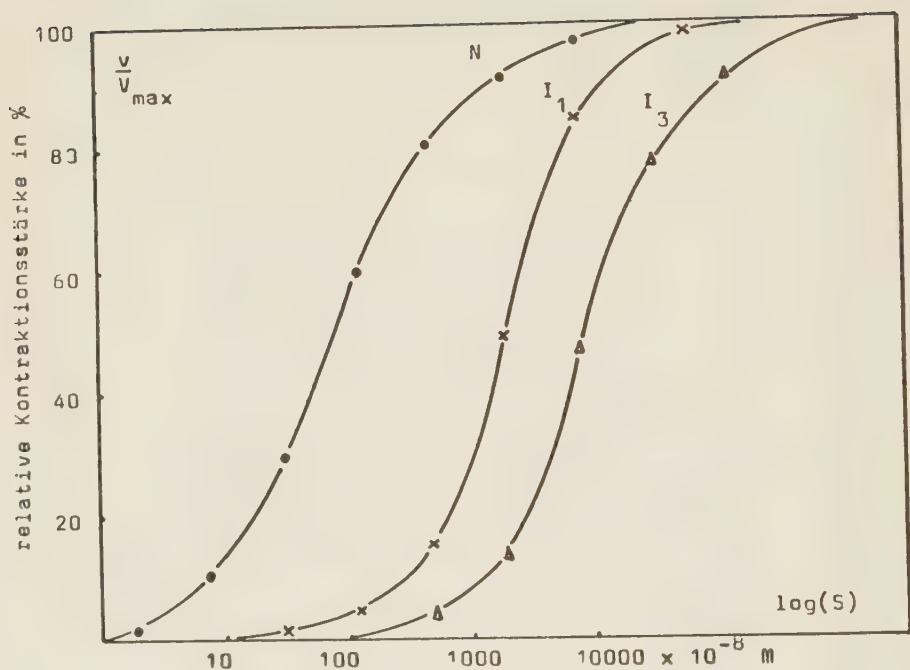


Abb. 7: Wirkung von Procain: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration; N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I₁ 20 x 10⁻⁴ M und bei I₃ 80 x 10⁻⁴ M Procain.

A b s z i s s e : log der molaren Acetylcholinkonzentration (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

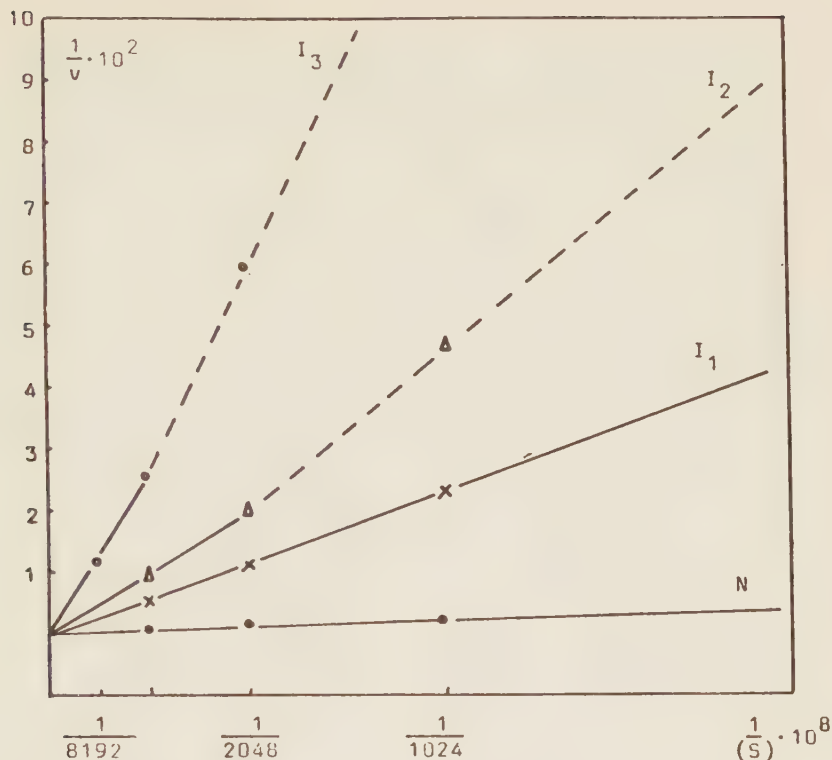


Abb. 8: Wirkung von Procain; Reziproke Darstellung der Dosis-Wirkungskurve aus Abb. 7. N ist der Verlauf der Geraden bei ungehemmter Acetylcholinwirkung; bei I₁ bis I₃ 20; 40 und 80 x 10⁻⁴ M Procain.

A b s z i s s e : Reziproke Werte der molaren Acetylcholin-konzentrationen: $1/(S)$

O r d i n a t e : Reziproker Wert der relativen Kontraktionshöhe: $1/v$

Tab. 4: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f) unter der Einwirkung von Procain.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe			
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Procain		
		20×10^{-4} M	40×10^{-4} M	80×10^{-4} M
4	$6 \pm 0,55$			
16	$18 \pm 0,25$			
64	$44 \pm 0,35$	$3 \pm 0,40$	$1 \pm 0,10$	$0 \pm 0,20$
256	$70 \pm 1,25$	$7 \pm 0,58$	$4 \pm 0,31$	$2 \pm 0,22$
1024	$85 \pm 2,45$	$30 \pm 1,60$	$17 \pm 0,67$	$7 \pm 0,70$
4096	$94 \pm 1,40$	$80 \pm 2,40$	$67 \pm 1,20$	$30 \pm 0,85$

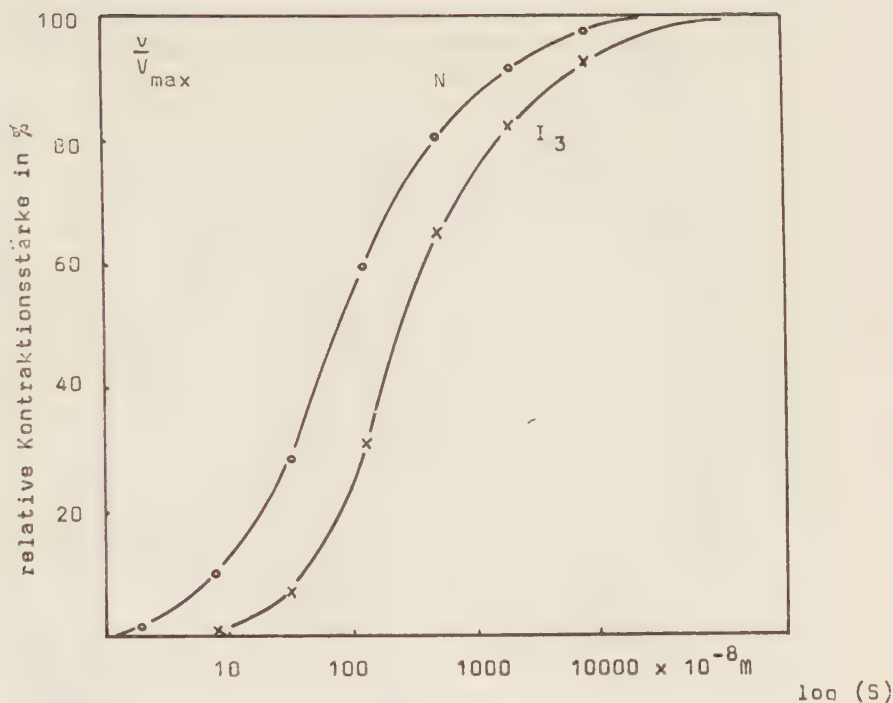


Abb. 9: Wirkung von Procainamid: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration; N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I₃ 80 x 10⁻⁴ M Procainamid.

A b s z i s s e : log der molaren Acetylcholinkonzentration (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

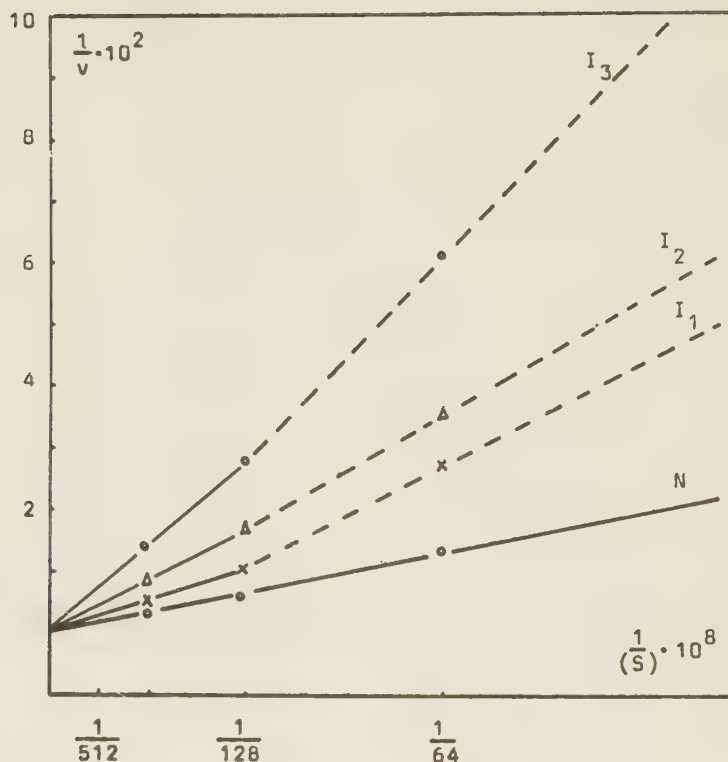


Abb. 10: Wirkung von Procainamid: Reziproke Darstellung der Dosis-Wirkungskurve aus Abb. 9. N ist der Verlauf der Geraden bei ungehemmter Acetylcholinwirkung; bei I₁ bis I₃ 10; 40 und 80 x 10⁻⁴ M Procainamid.

A b s z i s s e : Reziproke Werte der molaren Acetylcholin-konzentrationen: $1/(S)$

O r d i n a t e : Reziproker Wert der relativen Kontraktions-höhe: $1/v$

Tab. 5: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern ($\bar{f}$) unter der Einwirkung von Procainamid.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe			
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Procainamid		
		10×10^{-4} M	40×10^{-4} M	80×10^{-4} M
4	$6 \pm 0,55$			
16	$18 \pm 0,25$	$4 \pm 1,8$	$3 \pm 0,11$	$2 \pm 0,21$
64	$44 \pm 0,35$	$29 \pm 1,2$	$22 \pm 1,50$	$14 \pm 0,40$
256	$70 \pm 1,25$	$86 \pm 0,4$	$77 \pm 1,40$	$73 \pm 2,30$
1024	$85 \pm 2,45$	$100 \pm 2,3$	$97 \pm 1,50$	$100 \pm 3,01$
4096	$94 \pm 1,40$			

b) Nichtkompetitive Hemmstoffe: Papaverin als bekannte spasmolytische Substanz wurde in den Konzentrationen zwischen $2,5$ und 10×10^{-6} M untersucht (Abb. 11 und Tab. 6). Papaverin ließ sich mit zunehmender Hemmstoffkonzentration durch Acetylcholin nicht vollständig verdrängen. Wie aus Abb. 12 hervorgeht, muß angenommen werden, daß Papaverin neben seiner Wirkung auf cholinergische Rezeptoren auch noch andere Rezeptoren besetzt, zu denen Acetylcholin keine Affinität besitzt und deshalb von Acetylcholin auch nicht verdrängt werden kann. Neben einem kompetitiven Hemmungsmechanismus muß deshalb noch ein unkompetitiver mit in Betracht gezogen werden. Die Hemmung verläuft also nichtkompetitiv. Würde ein rein unkompetitiver Hemmungsmechanismus vorliegen, so würden sich die Geraden in Abb. 12 alle auf der Abszisse schneiden (DIXON 1953). Die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion wurde nach DIXON (Abb. 12) mit $K_I = 1,5 \times 10^{-6}$ M bestimmt.

Ajmalin und verwandte Substanzen: Ajmalin, Iso-Ajmalin, Brom-Ajmalin, Acetyl-Ajmalin und N_b -Methyl-Ajmalin hatten eine ähnliche Wirkung wie Papaverin. Sie ließen sich alle mit zunehmender Hemmstoffkonzentration durch Acetylcholin nicht vollständig verdrängen. Wie die Auswertung nach DIXON jedoch zeigt (Abb. 14, 16, 18, 20 und 22), muß neben dem unkompetitiven Hemmungsmechanismus auch ein kompetitiver in Betracht gezogen werden.

Ajmalin wurde in den Konzentrationen zwischen $0,625 \times 10^{-4}$ M und $2,5 \times 10^{-4}$ M untersucht (Abb. 13 und Tab. 8). Die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion wurde nach DIXON mit $K_I = 23,7 \times 10^{-6}$ M ermittelt.

Iso-Ajmalin wurde in den Konzentrationen zwischen $1,25 \times 10^{-4}$ M und 5×10^{-4} M untersucht (Abb. 15 und Tab. 9). Die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion wurde nach DIXON mit $K_I = 20 \times 10^{-6}$ M ermittelt.

Brom-Ajmalin wurde in den Konzentrationen zwischen $0,625 \times 10^{-4}$ M und $2,5 \times 10^{-4}$ M untersucht (Abb. 17 und Tab. 10). Die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion wurde nach DIXON mit $K_I = 21,2 \times 10^{-6}$ M ermittelt.

Acetyl-Ajmalin wurde in den Konzentrationen zwischen $0,625 \times$

10^{-4} M und $2,5 \times 10^{-4}$ untersucht (Abb. 19 und Tab. 11). Die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion wurde nach DIXON mit $K_I = 15,6 \times 10^{-6}$ M ermittelt.

N_b - Methyl - Ajmalin wurde in den Konzentrationen zwischen $2,5 \times 10^{-4}$ M und 10×10^{-4} M untersucht (Abb. 21 und Tab. 12). Die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion wurde nach DIXON mit $K_I = 30 \times 10^{-6}$ M ermittelt.

Chinidin und Chinin haben gleichfalls ähnlich wie Papaverin gewirkt. Auch sie ließen sich durch Acetylcholin nicht vollständig verdrängen (Abb. 23 und Abb. 25, Tab. 13 und Tab. 14). Entsprechend zeigen auch die Auswertungen nach DIXON (Abb. 24 und Abb. 26) neben dem unkompetitiven Hemmungsmechanismus eine kompetitive Komponente.

Chinidin wurde in den Konzentrationen 1,25 bis 5×10^{-4} M untersucht. Die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion wurde nach DIXON mit $K_I = 12,5 \times 10^{-6}$ M ermittelt.

Chinin wurde in den Konzentrationen zwischen 0,625 und $2,5 \times 10^{-4}$ M untersucht. Die Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion wurde nach DIXON mit $K_I = 13,7 \times 10^{-6}$ M ermittelt.

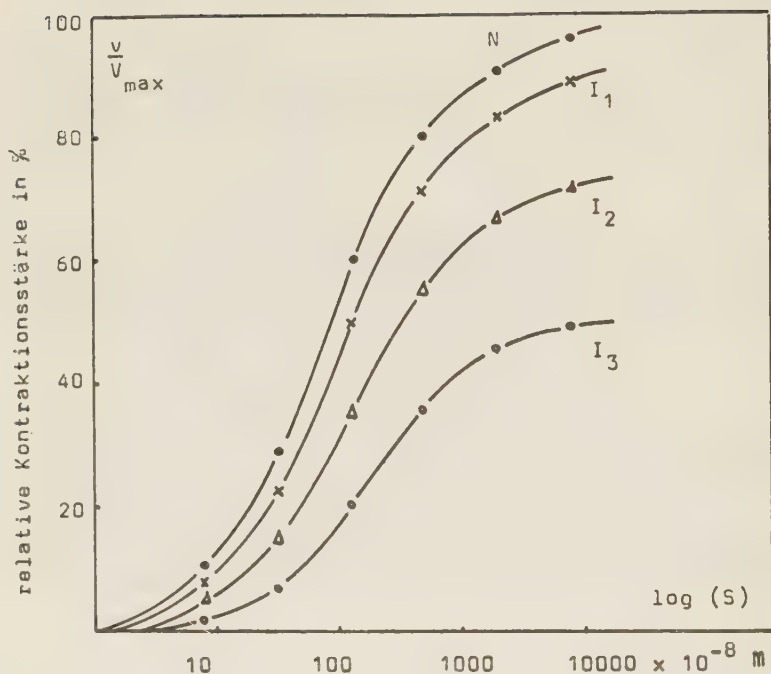


Abb. 11: Wirkung von Papaverin: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I₁ 2,5 x 10⁻⁶ M; bei I₂ 5 x 10⁻⁶ M und bei I₃ 10 x 10⁻⁶ M Papaverin.

A b s z i s s e : log der molaren Acetylcholinkonzentration (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

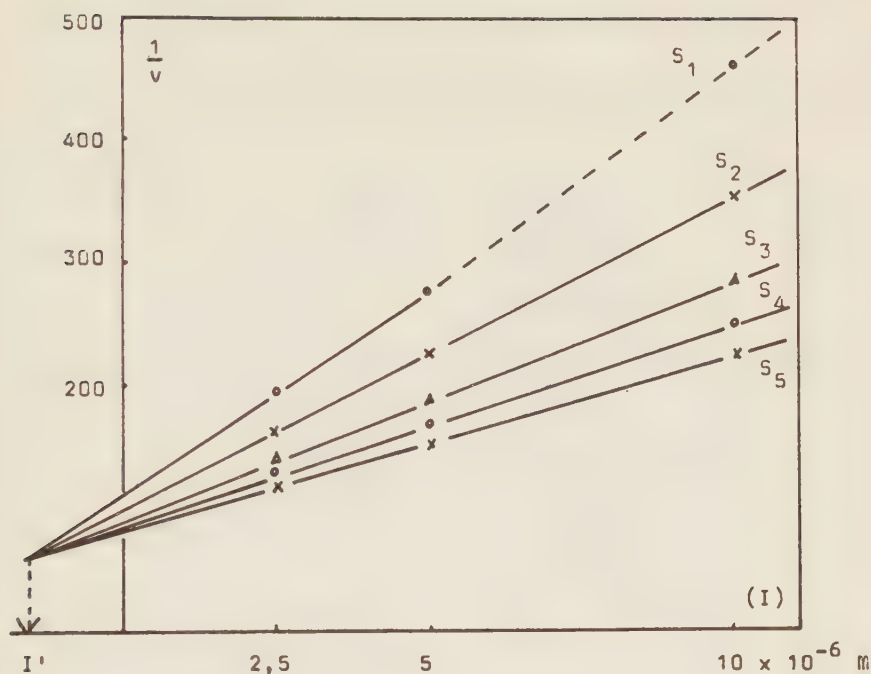


Abb. 12: Ermittlung der Hemmungskonstante K_I für Papaverin nach DIXON (1953). S_1 bis S_5 molare Acetylcholin-konzentrationen ($128; 256; 512; 1024$ und 2048×10^{-8} M Acetylcholin).

A b s z i s s e : Molare Inhibitorkonzentration (I)

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktions-höhe $1/v$

Tab. 6: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern ($\bar{f}$) unter der Einwirkung von Papaverin.

ACH-Konz. $\times 10^{-6}$ M	relative Kontraktionshöhe		
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Papaverin	
		$2,5 \times 10^{-6}$ M	10×10^{-6} M
4	$6 \pm 0,55$		
16	$18 \pm 0,25$	$15 \pm 1,04$	$11 \pm 0,53$
64	$44 \pm 0,35$	$40 \pm 1,10$	$27 \pm 0,50$
256	$70 \pm 1,25$	$61 \pm 0,54$	$45 \pm 0,45$
1024	$85 \pm 2,45$	$76 \pm 1,60$	$60 \pm 0,80$
4096	$94 \pm 1,40$	$86 \pm 1,30$	$69 \pm 0,80$
			$4 \pm 0,86$
			$14 \pm 1,20$
			$28 \pm 2,20$
			$40 \pm 2,04$
			$47 \pm 1,50$

Tab. 7: Nichtkompetitive Hemmstoffe

Gleichgewichtskonstante der hemmenden Reaktion K_I , für die Rezeptor-Inhibitor-Komplexe.

Dissoziationskonstante für den Acetylcholin-Rezeptorkomplex = $79,5 \times 10^{-8}$ M.

Inhibitor	K_I ,	Affinität = $\frac{1}{K_I}$, Acetylcholin = 100
Papaverin	$1,5 \times 10^{-6}$ M	52,7
Chinidin	$12,5 \times 10^{-6}$ M	6,3
Chinin	$13,7 \times 10^{-6}$ M	5,7
Acetyl-Ajmalin	$15,6 \times 10^{-6}$ M	5,0
Iso-Ajmalin	$20,0 \times 10^{-6}$ M	3,9
Brom-Ajmalin	$21,2 \times 10^{-6}$ M	3,7
Ajmalin	$23,7 \times 10^{-6}$ M	3,4
N _b -Methyl-Ajmalin	$30,0 \times 10^{-6}$ M	2,6

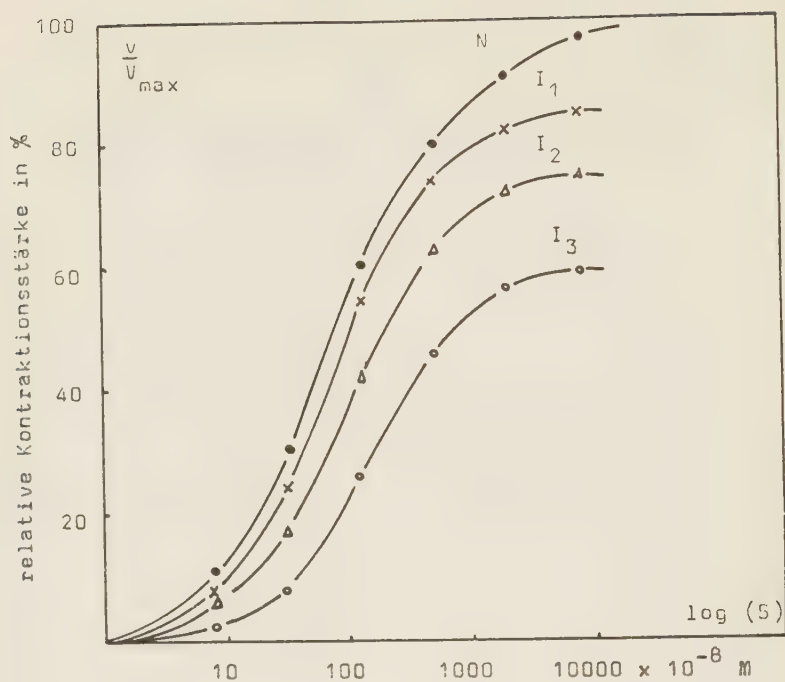


Abb. 13: Wirkung von Ajmalin: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I_1 $0,625 \times 10^{-4}$ M; bei I_2 $1,25 \times 10^{-4}$ M und bei I_3 $2,5 \times 10^{-4}$ M Ajmalin.

A b s z i s s e : $\log$ der molaren Acetylcholinkonzentrationen (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

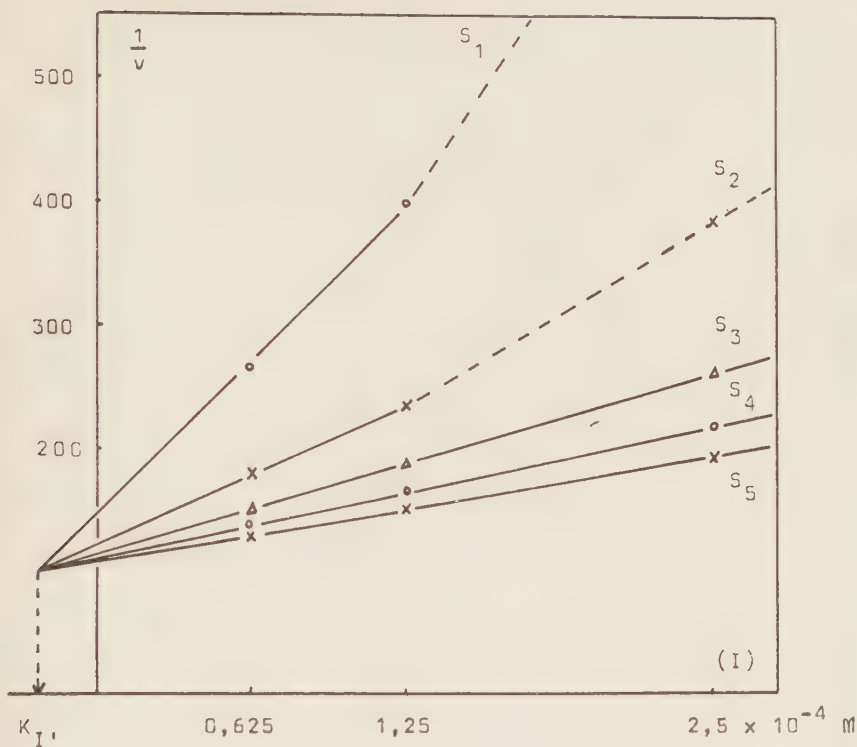


Abb. 14: Ermittlung der Hemmungskonstante K_I für Ajmalin nach DIXON (1953). S_1 bis S_5 molare AcetylcholinKonzentrationen (64 ; 128 ; 256 ; 512 und 1024×10^{-8} M Acetylcholin).

A b s z i s s e : Molare Inhibitorkonzentration (I)

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

Tab. 8: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f) unter der Einwirkung von Ajmalin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe		
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Ajmalin	
		$0,625 \times 10^{-4}$ M	$1,25 \times 10^{-4}$ M
4	$6 \pm 0,55$	$7 \pm 0,7$	$4 \pm 0,41$
16	$18 \pm 0,25$	$19 \pm 1,2$	$10 \pm 0,58$
64	$44 \pm 0,35$	$38 \pm 1,8$	$25 \pm 0,60$
256	$70 \pm 1,25$	$66 \pm 2,2$	$55 \pm 0,60$
1024	$85 \pm 2,45$	$78 \pm 2,09$	$67 \pm 0,97$
4096	$94 \pm 1,40$	$82 \pm 2,30$	$72 \pm 1,00$
			$2,5 \times 10^{-4}$ M
			$2 \pm 0,56$
			$5 \pm 0,40$
			$13 \pm 0,84$
			$38 \pm 0,90$
			$52 \pm 0,90$
			$57 \pm 1,60$

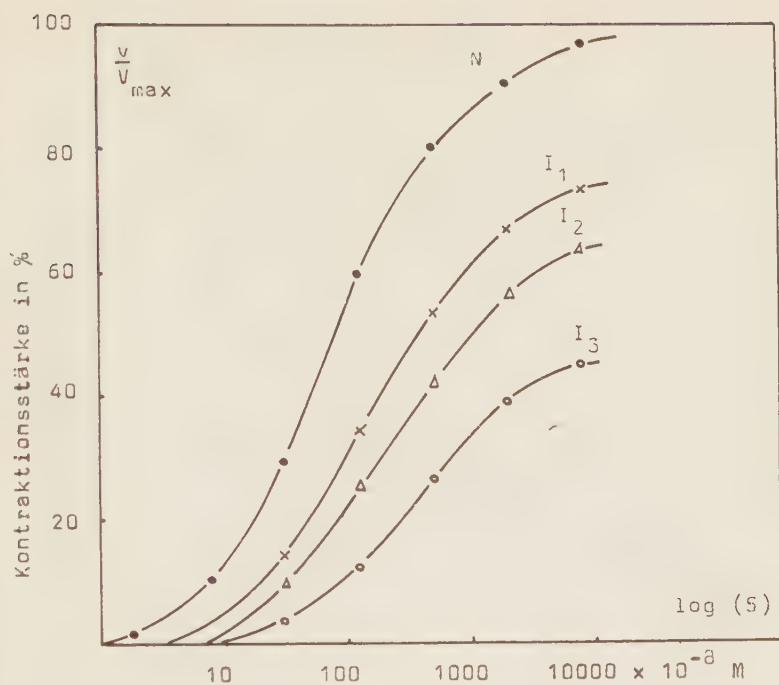


Abb. 15: Wirkung von Iso-Ajmalin: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I_1 $1,25 \times 10^{-4} \text{ M}$; bei I_2 $2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ und bei I_3 $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ Iso-Ajmalin.

A b s z i s s e : log der molaren AcetylcholinKonzentration (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

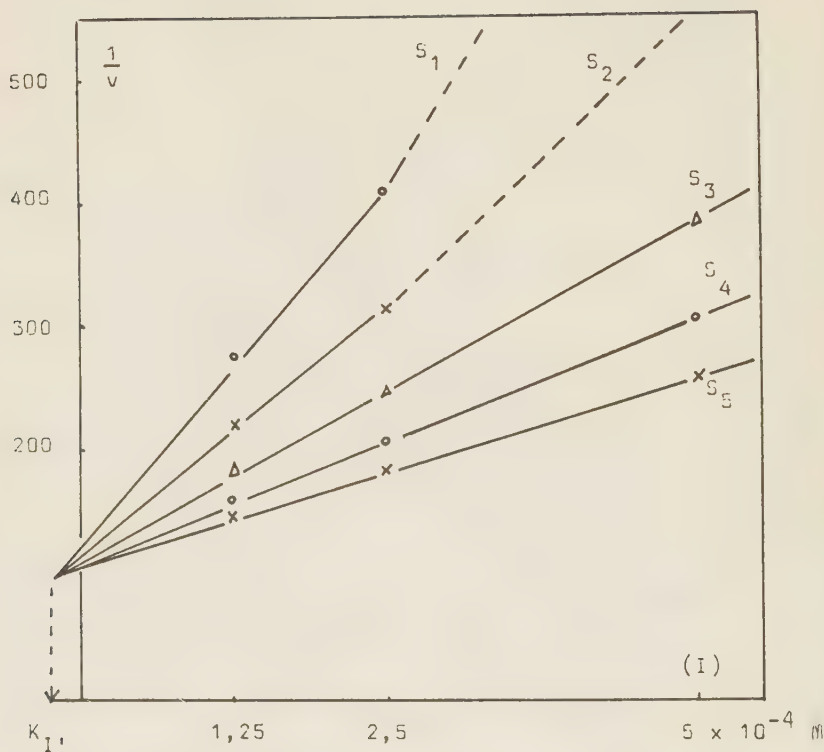


Abb. 16: Ermittlung der Hemmungskonstante K_I für Iso-Ajmalin nach DIXON (1953). S_1 bis S_5 molare Acetylcholinkonzentrationen ($128; 256; 512; 1024$ und 2048×10^{-8} M Acetylcholin)

A b s z i s s e : Molare InhibitorKonzentration (I)

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

Tab. 9: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern ($\bar{n}$) unter Einwirkung von Iso-Ajmalin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe		
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Iso-Ajmalin	
		$1,25 \times 10^{-4}$ M	5×10^{-4} M
4	$6 \pm 0,55$		
16	$18 \pm 0,25$	$12 \pm 1,30$	$3 \pm 0,30$
64	$44 \pm 0,35$	$26 \pm 2,03$	$8 \pm 0,57$
256	$70 \pm 1,25$	$45 \pm 1,00$	$18 \pm 0,57$
1024	$85 \pm 2,45$	$60 \pm 0,80$	$33 \pm 1,10$
4096	$94 \pm 1,40$	$70 \pm 1,00$	$43 \pm 1,29$

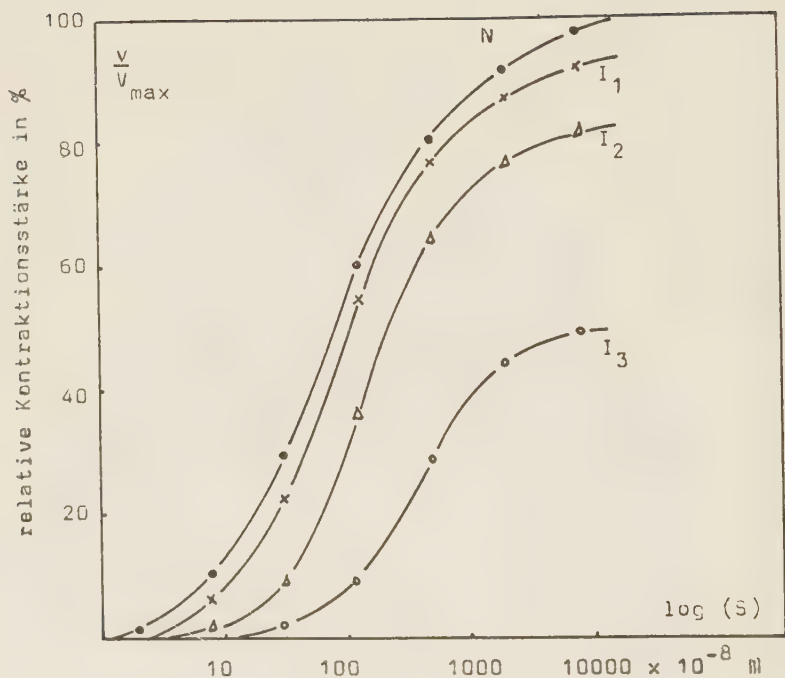


Abb. 17: Wirkung von Brom-Ajmalin: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I₁ $0,625 \times 10^{-4} \text{ M}$; bei I₂ $1,25 \times 10^{-4} \text{ M}$ und bei I₃ $2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ Brom-Ajmalin.

A b s z i s s e : $\log$ der molaren Acetylchlinkonzentrationen (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

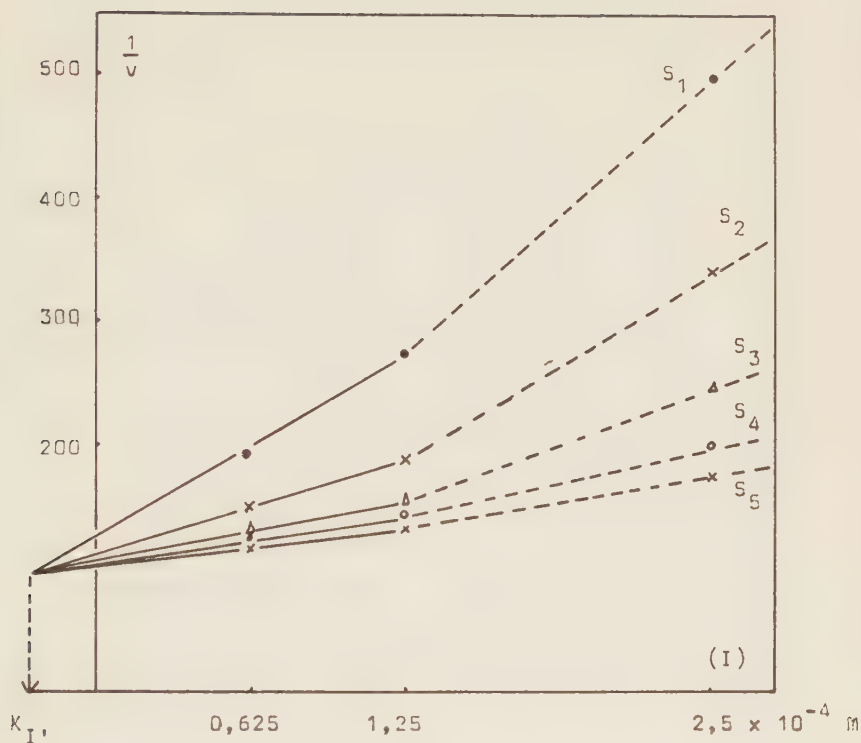


Abb. 18: Ermittlung der Hemmungskonstante K_I , für Brom-Ajmalin nach DIXON (1953). S_1 bis S_5 molare Acetylcholin-konzentrationen (128; 256; 512; 1024 und $2048 \times 10^{-8} \text{ M}$ Brom-Ajmalin).

A b s z i s s e : Molare Inhibitorkonzentration (I)

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

Tab. 10: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern ($\bar{f}$) unter Einwirkung von Brom-Ajmalin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe			
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Brom-Ajmalin		
		$0,625 \times 10^{-4}$ M	$1,25 \times 10^{-4}$ M	$2,5 \times 10^{-4}$ M
4	$6 \pm 0,55$			
16	$18 \pm 0,25$	$11 \pm 1,3$	$2 \pm 0,8$	
64	$44 \pm 0,35$	$36 \pm 2,4$	$18 \pm 1,3$	$1 \pm 0,4$
256	$70 \pm 1,25$	$68 \pm 2,2$	$53 \pm 2,6$	$15 \pm 1,1$
1024	$85 \pm 2,45$	$82 \pm 2,9$	$71 \pm 3,4$	$40 \pm 1,5$
4096	$94 \pm 1,40$	$87 \pm 4,0$	$79 \pm 2,4$	$49 \pm 1,4$

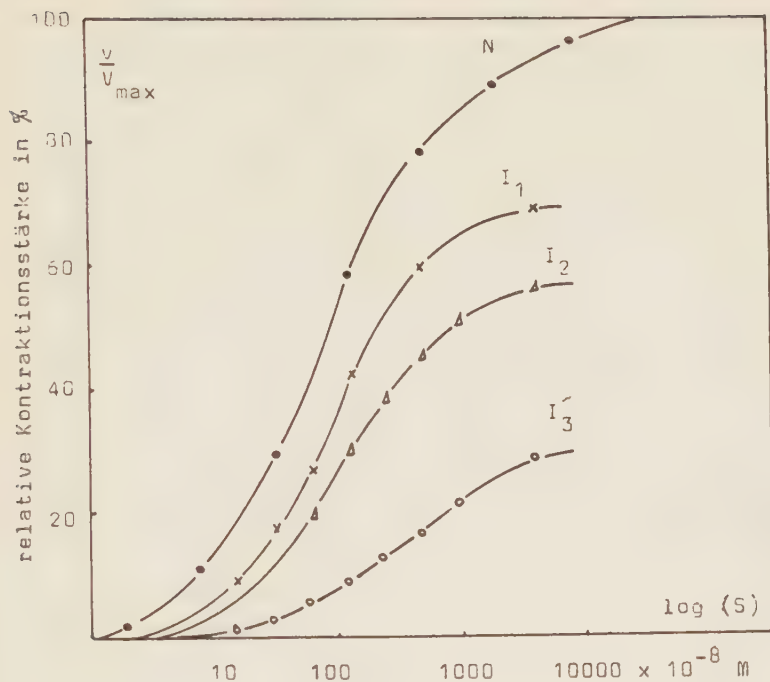


Abb. 19: Wirkung von Acetyl-Ajmalin; Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration; N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I_1 $0,625 \times 10^{-4} \text{ M}$; bei I_2 $1,25 \times 10^{-4} \text{ M}$ und bei I_3 $2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ Acetyl-Ajmalin.

A b s z i s s e : log der molaren Acetylcholinkonzentrationen (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

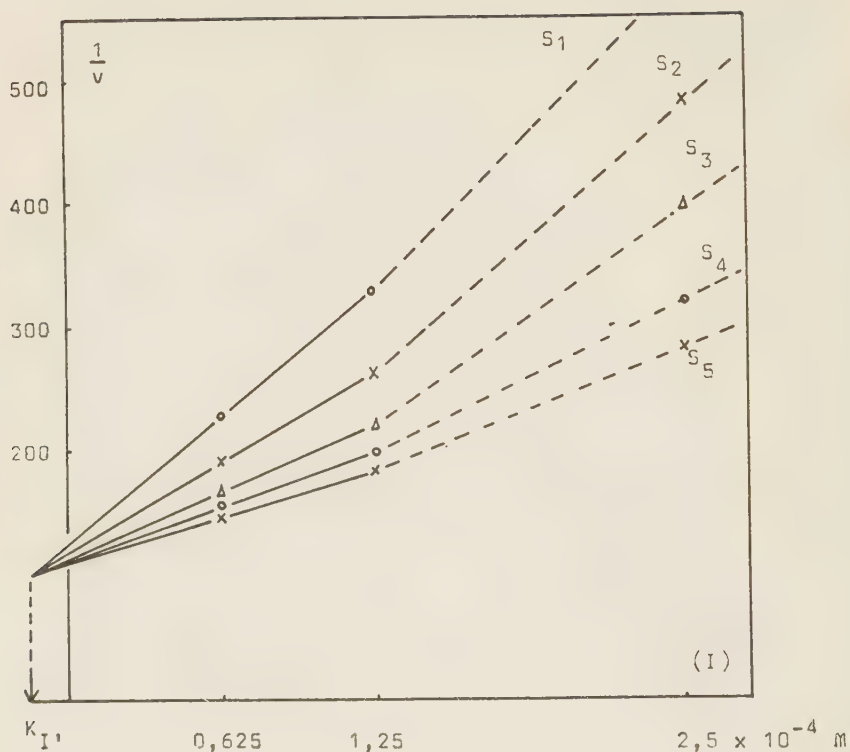


Abb. 20: Ermittlung der Hemmungskonstante K_I für Acetyl-Ajmalin nach DIXON (1953). S_1 bis S_5 molare AcetylcholinKonzentrationen ($128; 156; 512; 1024$ und $2048 \times 10^{-8} \text{ M}$ Acetylcholin).

A b s z i s s e : Molare Inhibitorkonzentration (I)

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

Tab. 11: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f) unter Einwirkung von Acetyl-Ajmalin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe			
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Acetyl-Ajmalin		
		$0,625 \times 10^{-4}$ M	$1,25 \times 10^{-4}$ M	$2,5 \times 10^{-4}$ M
4	$6 \pm 0,55$	$6 \pm 1,03$	$4 \pm 0,59$	
16	$18 \pm 0,25$	$19 \pm 0,79$	$10 \pm 0,64$	$2 \pm 0,34$
64	$44 \pm 0,35$	$37 \pm 1,60$	$21 \pm 0,50$	$5 \pm 0,50$
256	$70 \pm 1,25$	$52 \pm 1,30$	$38 \pm 1,08$	$12 \pm 0,70$
1024	$85 \pm 2,45$	$63 \pm 2,20$	$51 \pm 1,60$	$22 \pm 0,67$
4096	$94 \pm 1,40$	$67 \pm 2,10$	$56 \pm 1,60$	$31 \pm 1,20$

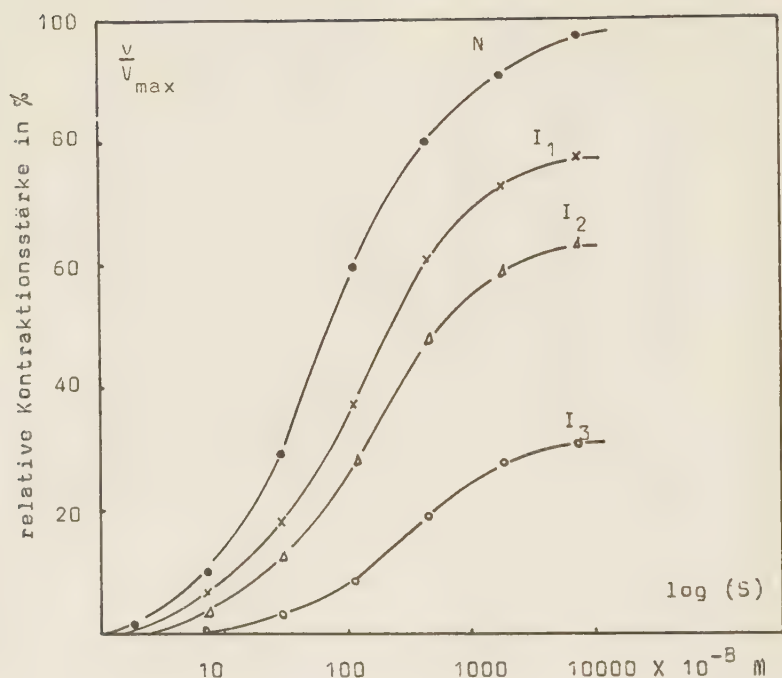


Abb. 21: Wirkung von N_b -Methyl-Ajmalin; Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration; N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I_1 $2,5 \times 10^{-4} M$; bei I_2 $5 \times 10^{-4} M$ und bei I_3 $10 \times 10^{-4} M$ N_b -Methyl-Ajmalin.

A b s z i s s e : $\log$ der molaren Acetylcholinkonzentrationen (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

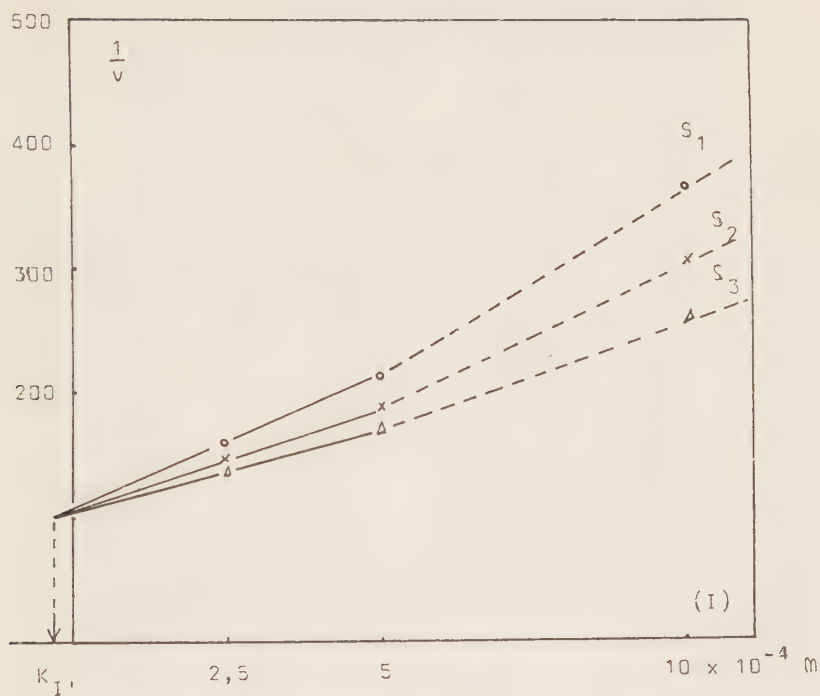


Abb. 22: Ermittlung der Hemmungskonstante K_I für N_b-Methyl-Ajmalin nach DIXON (1953). S_1 bis S_3 molare Acetylcholin-konzentrationen (512 ; 1024 und 2048×10^{-8} M Acetylcholin).

A b s z i s s e : Molare Inhibitorkonzentration (I)

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

Tab. 12: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f) unter der Einwirkung von N_b -Methyl-Ajmalin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe			
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von N_b -Methyl-Ajmalin		
		$2,5 \times 10^{-4}$ M	5×10^{-4} M	10×10^{-4} M
4	$6 \pm 0,55$			
16	$18 \pm 0,25$	$14 \pm 1,8$	$8 \pm 1,05$	$1 \pm 0,67$
64	$44 \pm 0,35$	$27 \pm 1,3$	$19 \pm 1,60$	$5 \pm 1,00$
256	$70 \pm 1,25$	$48 \pm 2,04$	$37 \pm 2,30$	$13 \pm 1,80$
1024	$85 \pm 2,45$	$67 \pm 2,20$	$53 \pm 2,70$	$25 \pm 2,70$
4096	$94 \pm 1,40$	$75 \pm 2,40$	$61 \pm 3,10$	$31 \pm 3,10$

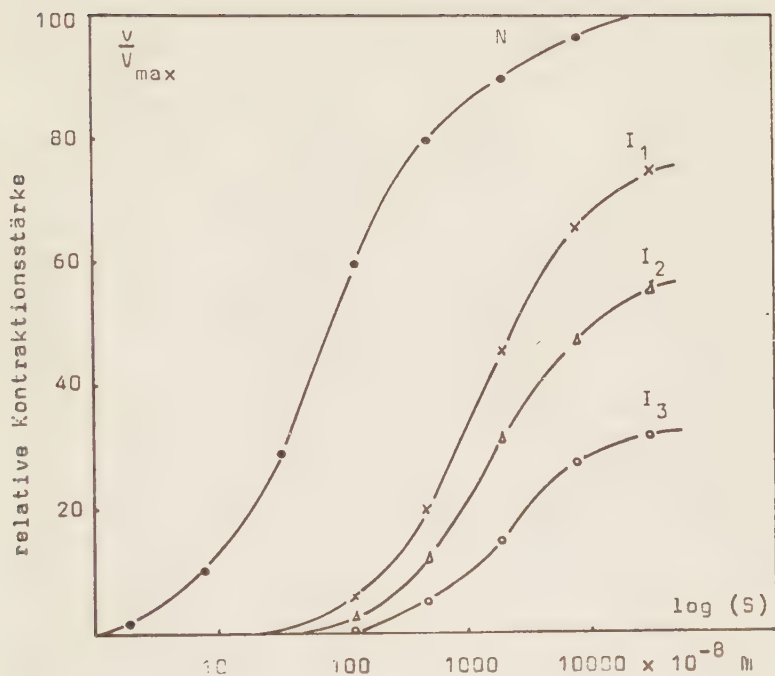


Abb. 23: Wirkung von Chinidin: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration: N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I₁ $1,25 \times 10^{-4} M$; bei I₂ $2,5 \times 10^{-4} M$ und bei I₃ $5 \times 10^{-4} M$ Chinidin.

A b s z i s s e : log der molaren Acetylcholinkonzentrationen (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

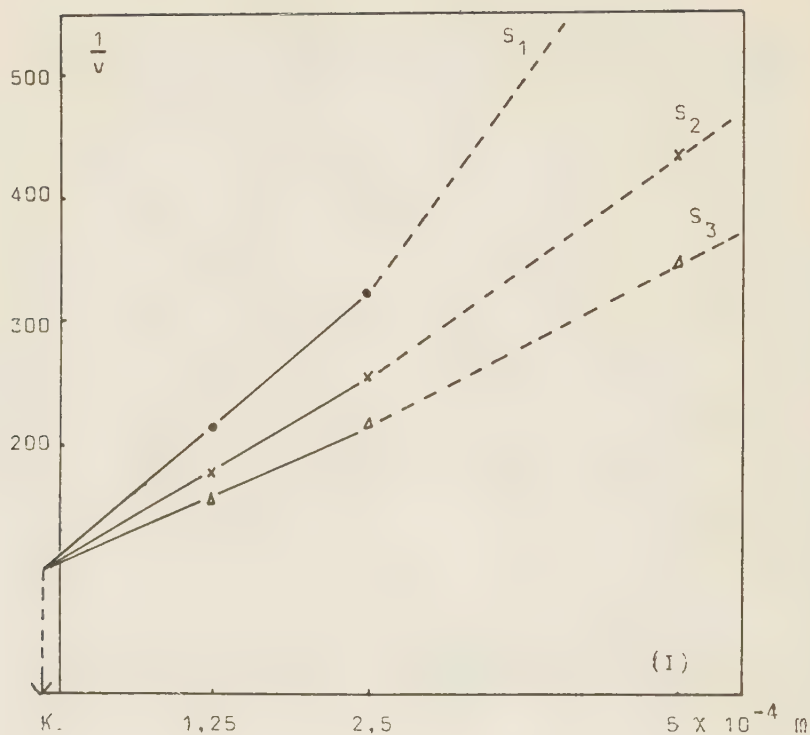


Abb. 24: Ermittlung der Hemmungskonstante K_I , für Chinidin nach DIXON (1953). S_1 bis S_3 molare Acetylcholinkonzentrationen (2048 ; 4096 und 8192×10^{-8} M Acetylcholin).

A b s z i s s e : Molare Inhibitorkonzentration (I)

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

Tab. 13: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f) unter der Einwirkung von Chinidin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe		
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Chinidin	
		$1,25 \times 10^{-4}$ M	5×10^{-4} M
4	$6 \pm 0,55$		
16	$18 \pm 0,25$		
64	$44 \pm 0,35$		
256	$70 \pm 1,25$	$10 \pm 0,57$	$6 \pm 0,75$
1024	$85 \pm 2,45$	$32 \pm 1,50$	$24 \pm 1,00$
4096	$94 \pm 1,40$	$58 \pm 1,10$	$39 \pm 1,70$
			$2 \pm 0,40$
			$9 \pm 0,87$
			$21 \pm 0,67$

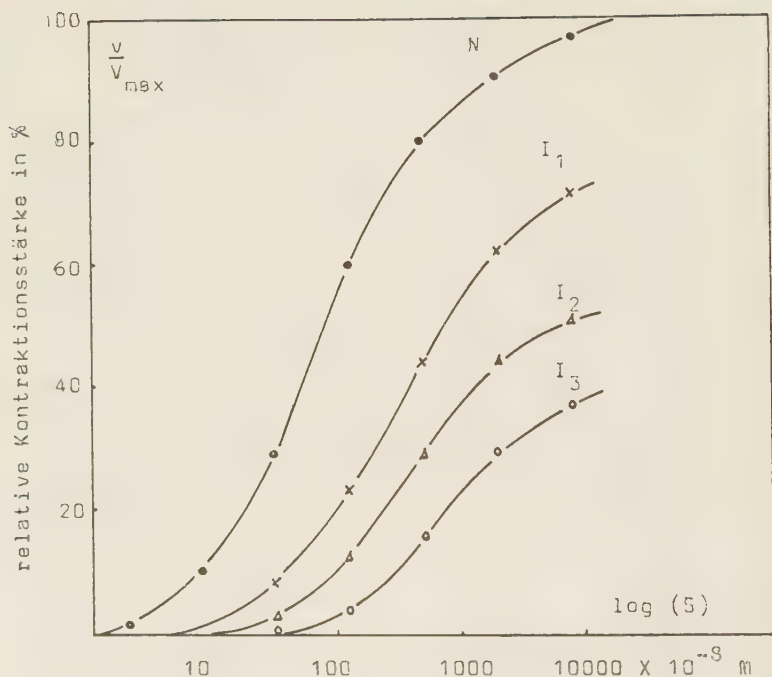


Abb. 25: Wirkung von Chinin: Beziehung zwischen Konzentration und Wirkung von Acetylcholin am Jejunum der Ratte in Abhängigkeit von der Hemmstoffkonzentration; N ist die ungehemmte Dosis-Wirkungsbeziehung; bei I₁ $0,625 \times 10^{-4} \text{ M}$; bei I₂ $1,25 \times 10^{-4} \text{ M}$ und bei I₃ $2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ Chinin.

A b s z i s s e : $\log$ der molaren AcetylcholinKonzentrationen (S)

O r d i n a t e : Kontraktionshöhe in relativen Werten zur Maximalhöhe in %

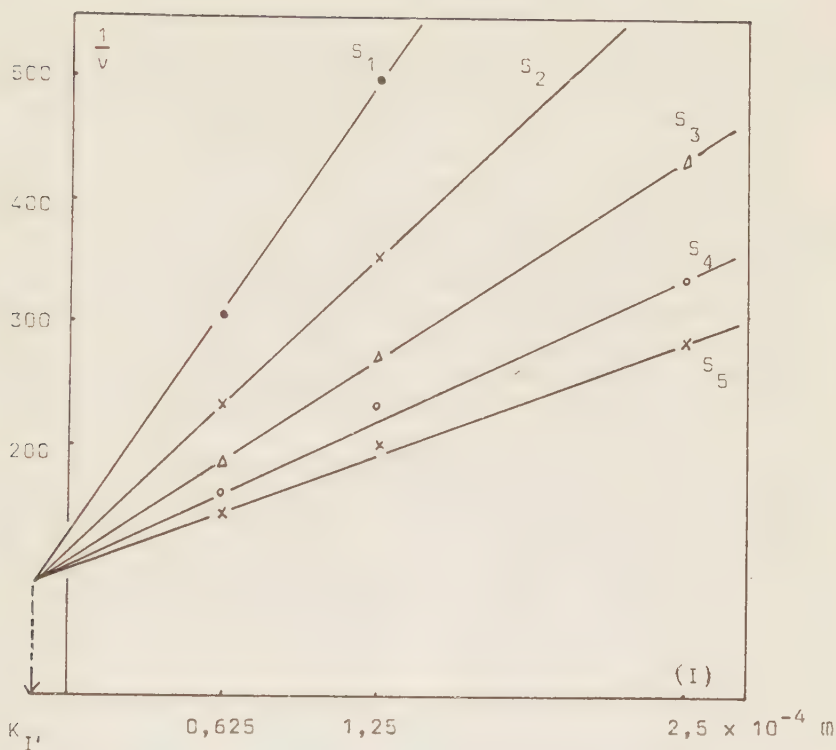


Abb. 26: Ermittlung der Hemmungskonstante K_I für Chinin nach DIXON (1953). S_1 bis S_5 molare Acetylcholin-konzentrationen (256 ; 512 ; 1024 ; 2048 und 4096×10^{-4} M Acetylcholin).

A b s z i s s e : Molare Inhibitorkonzentration (I)

O r d i n a t e : Reziproker Wert der Kontraktionshöhe $1/v$

Tab. 14: Mittelwerte ($\bar{x}$) der relativen Kontraktionshöhen in % mit ihren mittleren Fehlern (f)
unter der Einwirkung von Chinin.

ACH-Konz. $\times 10^{-8}$ M	relative Kontraktionshöhe		
	ohne Hemmstoff	unter Einwirkung von Chinin	
		$0,625 \times 10^{-4}$ M	$1,25 \times 10^{-4}$ M
4	$6 \pm 0,55$		$2,5 \times 10^{-4}$ M
16	$18 \pm 0,25$	$6 \pm 1,50$	
64	$44 \pm 0,35$	$15 \pm 1,80$	$2 \pm 0,34$
256	$70 \pm 1,25$	$33 \pm 1,40$	$6 \pm 1,10$
1024	$85 \pm 2,45$	$53 \pm 2,03$	$20 \pm 1,50$
4096	$94 \pm 1,40$	$67 \pm 1,90$	$36 \pm 1,20$
			$48 \pm 1,59$
			$1 \pm 0,3$
			$9 \pm 0,9$
			$23 \pm 0,4$
			$35 \pm 1,6$

DISKUSSION

Im Endinnervationsgebiet des peripheren vegetativen Nervensystems sehen die Anhänger der Neuronenlehre auf Grund experimenteller und elektronenmikroskopischer Befunde die einzelnen Nervenfasern auf ihrem Verlauf zum Erfolgsorgan sich vielfach durchflechten und verzweigen. Sie endigen in Endknöpfen und Endösen, wobei die Individualität der einzelnen Fasern gewahrt bleiben soll (ORTMANN 1959 und KIRSCH 1958). Einen Beweis für die Existenz eines solchen Nervenplexus konnten CAESAR, EDWARDS u. RUSKA (1957) mit Hilfe elektronenmikroskopischer Untersuchungen im Bereich der glatten Muskulatur erbringen. Sie konnten außerdem an der glatten Muskulatur der Harnblase umschriebene neuromuskuläre Synapsen nachweisen und zeigen, daß die Kontaktstellen im wesentlichen ähnliche Merkmale besitzen, wie die neuromuskulären Synapsen der quergestreiften Muskulatur.

CAESAR, EDWARDS u. RUSKA (1957) fanden auch, daß die Verzweigungen der vegetativen Nervenfasern sich im Protoplasma der SCHWANNschen Zellen befinden, daß sie aber dann in ihrem weiteren Verlauf, ohne Bedeckung durch SCHWANNsche Elemente, einen Kontakt mit den glatten Muskelzellen aufnehmen, von diesen aber durch einen Spalt von etwa $200 \text{ \AA}$ Breite getrennt bleiben.

Mit diesen Befunden stimmen die Ergebnisse überein, die BRETTSCHEIDER (1963) auf Grund elektronenmikroskopischer Untersuchungen an der glatten Muskulatur des Rattendarmes beschrieben hat. Auch hier soll die Reizübertragung durch multiterminale Synapsen, die über die gesamte Muskulatur verteilt sind, erfolgen.

Über das funktionelle Geschehen an der Synapse konnten die Befunde von BRETTSCHEIDER keine ausreichende Auskunft geben. Auf Grund zahlreicher in das Axoplasma eingeschlossener synaptischer Bläschen glaubt er jedoch, auf ein humorales Geschehen bei der Reizübertragung von der Nervenendigung auf das Erfolgsorgan schließen zu können.

a) Kompetitive Hemmstoffe

Wie die Ergebnisse zeigen, konnte Atropin in dem untersuchten Konzentrationsbereich von Acetylcholin vollständig verdrängt werden. Dies deutet auf einen rein kompetitiven Hemmungsmechanismus hin. Atropin hemmt also

die Wirkung des Acetylcholins am Erfolgsorgan durch Konkurrenz am Rezeptor (cholinolytisches Spasmolytikum). Aus den Untersuchungen geht weiter hervor, daß Atropin, der Hemmstoff hat eine Dissoziationskonstante $K_I = 3,5 \times 10^{-8} \text{ M}$, eine hohe Affinität zum Acetylcholinrezeptor besitzt. Die Dissoziationskonstante des Acetylcholin-Rezeptor-Komplexes hat den Wert $K_s = 79,5 \times 10^{-8} \text{ M}$; vergleicht man somit die Affinitäten, so ergibt sich für das Atropin eine 22,5 mal höhere Affinität zum Acetylcholin-Rezeptor.

Die übrigen kompetitiven Hemmstoffe Serpentin, Procain und Procainamid hatten dagegen eine 10 bis 100 mal schwächere Affinität zum Acetylcholin-Rezeptor als Acetylcholin selbst. Trotz ihrer geringen Affinität zum Acetylcholin-Rezeptor sind diese Substanzen jedoch als rein cholinolytisch wirkende Hemmstoffe anzusehen.

Vom Acetylcholin-Rezeptor des glatten Muskels bestehen einige Vorstellungen. So nimmt GERO (1965) an, daß der Acetylcholin-Rezeptor des glatten Muskels (Abb. 27) in Analogie zur NACHMANSONschen Hypothese (NACHMANSON 1955) eine anionische Reaktionsstelle besitzt. An Stelle der esteratischen Seite soll der Rezeptor jedoch Reaktionsstellen besitzen, welche mit den beiden Sauerstoffatomen des Acetylcholins möglicherweise Wasserstoffbrückenbindungen eingehen. Diese Folgerung zieht GERO aus der Tatsache, daß Muscarin als starres Molekül eine mimetische Wirkung besitzt, die viel spezifischer ist als die des Acetylcholins und daß die verschiedenen Stereoisomeren des Muscarins bedeutend schwächer wirksam sind.

Serpentin, Procain und Procainamid haben eine positiv geladene Stickstoffgruppe, analog dem Atropin. Diese kationische Stickstoffgruppe wird, wie beim Atropin, vermutlich an die anionische Reaktionsstelle durch Coulomb'sche Kräfte elektrostatisch gebunden.

Procain und Procainamid haben eine dem Acetylcholin analoge Struktur. Die experimentellen Befunde würden somit gut mit der Annahme übereinstimmen, daß der elektrophile Carbonyl-Kohlenstoff von Procain und Procainamid mit der positiven Teilladung im Rezeptor in Reaktion tritt und, je nach Ladungsverteilung in der Carbonylgruppe, zu einer mehr oder weniger festen Bindung beiträgt.

Ein elektrophiler Carbonyl-Kohlenstoff ist auch im Serpentin enthalten. Es darf als wahrscheinlich angenommen werden, daß auch dieser mit der positiven Teilladung des Rezeptors reagiert und so zu einer Bindung beiträgt.

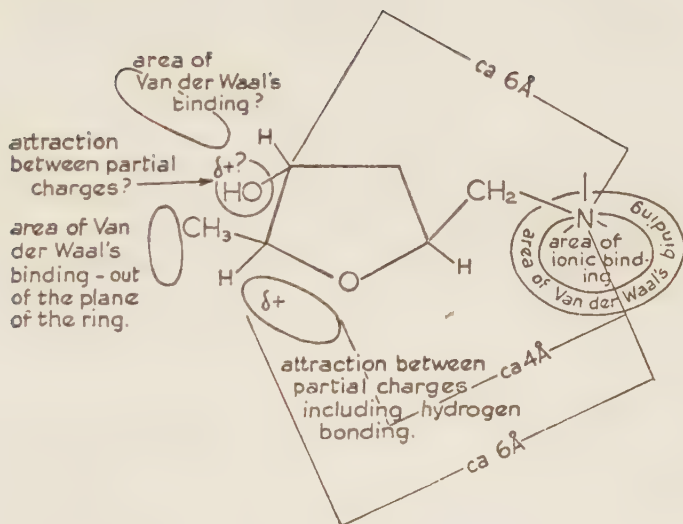


Abb. 27: Hypothetischer Bau des Acetylcholinrezeptors an der glatten Muskulatur: In der Abbildung wird die kationische quaternäre Stickstoffgruppe des Muscarins durch COULOMBsche Kräfte elektrostatisch angezogen und durch VAN DER WAALSSche Dispersionskräfte stabilisiert. Außer der anionischen Reaktionsstelle finden sich im Rezeptor noch Regionen mit positiven Teilladungen. Zu diesen können Wasserstoffbrückenbindungen aufgenommen werden.

b) Nichtkompetitive Hemmstoffe

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß sich Papaverin, im Gegensatz zu Atropin, durch Acetylcholin nicht vollständig von seinem Wirkungsort verdrängen läßt. Dies deutet auf einen unkompetitiven Hemmungsmechanismus hin. Papaverin konkurriert also mit Acetylcholin nicht um denselben Rezeptor.

Papaverin gehört pharmakologisch zu jenen Substanzen, welche auf die glatte Muskulatur, unabhängig von ihrer vegetativen Innervation, erschlaffend wirken. Papaverin besitzt somit keinen speziellen Antagonismus gegenüber Acetylcholin; vielmehr beruht seine Wirkung auf der direkten Einwirkung auf die glatte Muskelzelle (myotrope Wirkung, muskulotropes Spasmolytikum). Die Auswertung nach DIXON (1953) zeigt jedoch, daß kein ausschließlich unkompetitiver Hemmungsmechanismus vorliegt. Vielmehr muß angenommen werden, daß Papaverin zwar Rezeptorstellen besetzt, zu denen Acetylcholin keine Affinität besitzt, daß Papaverin daneben aber auch noch eine unbestimmte Affinität zu cholinergischen Rezeptoren hat.

Ähnlich wie Papaverin wirkten auch Ajmalin und seine verwandten Substanzen, sowie Chinidin und Chinin. Auch bei ihnen muß neben dem unkompetitiven Hemmungsmechanismus noch ein kompetitiver in Betracht gezogen werden. Von Ajmalin und Chinidin ist bekannt, daß sie auch an der quergestreiften Muskulatur (ENGEL 1965) zunächst kompetitiv hemmen, daß sich jedoch mit zunehmender Hemmstoffkonzentration noch ein unkompetitiver Hemmungsmechanismus hinzugesellt. Dies wurde damit erklärt, daß Ajmalin und Chinidin auf der postsynaptischen Zellmembran der myoneuralen Synapse zunächst cholinergische Rezeptoren in der Umgebung der Poren, welche bei der Depolarisation den Durchtritt von Na- und K-Ionen gestatten, besetzen und in höherer Dosierung, durch eine Anhäufung der Moleküle in den Poren, diese verstopfen.

Nach WASER (1957) dürfen solche Poren auch an den multiterminalen cholinergischen Synapsen der glatten Muskulatur angenommen werden. Dies läßt darauf schließen, daß die Hemmstoffe der Ajmalin- und Chinidingruppe auch an der glatten Muskelzelle in höheren Hemmstoffkonzentrationen zunehmend Rezeptoren in der Pore besetzen, zu denen Acetylcholin keine hohe Affinität mehr besitzt. Dadurch werden die Poren schließlich blockiert und der Ionenaustausch durch die Membran der glatten Muskelzelle während der Erregung durch Acetylcholin erschwert. Der Antagonismus von Papaverin, Ajmalin und Chinidin gegenüber Acetylcholin ist daher auch an der glatten Muskelzelle in hohen Hemmstoffkonzentrationen mehr funktionell als lokalisatorisch kompetitiv.

Die Wirkung dieser Substanzen beruht also auf der Änderung der Membranspermeabilität für die Na-Ionen und Inaktivierung des Na-Überträgers. Da Ajmalin und Chinidin an der Herzmuskelzelle durch Inaktivierung des Na-Transportsystems wirken und Papaverin außerdem auch an der Herzmuskelzelle chinidinartig wirkt, liegt es nahe, einen ähnlichen Wirkungsmechanismus auch an der glatten Muskulatur anzunehmen.

JUNG (1958) und BÜLBRING (1961) haben daraufhingewiesen, daß auch an der glatten Muskulatur des Uterus und des Darmes die Na-Permeabilität und die Aktivierbarkeit des Na-Transportsystems für die Erregbarkeit von entscheidender Bedeutung sind.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Wirkungen der Hemmstoffe Ajmalin, Iso-Ajmalin, Brom-Ajmalin, Acetyl-Ajmalin, N_b -Methyl-Ajmalin und Serpentin, sowie Chinidin, Chinin, Procain und Procainamid, Papaverin und Atropin, wurden an der glatten Muskulatur des Darmes untersucht.

Alle Substanzen hemmten die Wirkung des Acetylcholins und schwächten die Kontraktionsstärke ab. Der Hemmungsmechanismus war bei Atropin, Serpentin, Procain und Procainamid rein kompetitiv.

Papaverin, sowie die Substanzen der Ajmalin- und Chinidingruppe wirkten nicht-kompetitiv. Sie ließen sich von ihrem Wirkungsort durch Acetylcholin nicht vollständig verdrängen.

Die Dissoziationskonstanten K_I und die Gleichgewichtskonstanten der hemmenden Reaktion K_I , wurden für die Rezeptor-Inhibitor-Komplexe bestimmt.

Der vermutliche Wirkungsmechanismus an den Rezeptoren der peripheren multiterminalen cholinergischen Synapsen der glatten Muskulatur wurde besprochen.

L I T E R A T U R

ARIENS, E.J. a. A.M. Simonis:

J. Pharm. Pharmacol. 16, 289 (1964)

BARLOW, R.B.:

Introduction to Chemical Pharmacology

London, (Methuen & Co LTD) a. New York, (John Wiley & Sons INC) 1964

BRETTSCHEIDER, H.:

Verh. d. Anat. Ges., Ergbd. z. Anat. Anz. 112, 54 (1963)

BRISCOE, S. a. J.H. BURN:

J. Physiol. (London) 126, 181 (1954)

BÜLBRING, E.:

Pflügers Arch. ges. Physiol. 273, 1 (1961)

CAESAR, R., G.A. EDWARDS u. H. RUSKA:

J. biophys. biochem. Cytol. 3, 867 (1957)

CHATTERJEE, M.L. a. M.S. DE:

Nature 200, 1067 (1963)

CLARK, A.J.:

"General Pharmacology" in Heffter's Handbuch der Pharmakologie,
Erg.-Bd. 4, Springer-Verlag, Berlin (1937)

DIXON, M.:

Biochem. J. 55, 170 (1953)

ENGEL, G.:

Zum Wirkungsmechanismus antifibrillatorisch herzwirksamer Alkaloide
an der neuromuskulären Synapse.

Inaug.-Diss., München (1965)

GERO, A.:

In: Drill's Pharmacology in Medicine, S. 47.

J.R. DI PALMA, Ed., Mc Graw-Hill Book Company New York, Toronto,
Sydney, London, 1965.

HOLLAND, W.C.:

Amer. J. Physiol. 190, 492 (1957)

JUNG, H.:

Arch. Gynäk. 191, 224 (1958)

KIRSCHKE, W.:

Z. mikr.-anat. Forsch. 64, 707 (1958)

LANGLEY, J.N.:

J. Physiol. (London) 33, 374 (1905)

LINEWEAVER, H. a. O. BURK:

J. Amer. Chem. Soc. 56, 658 (1934)

MICHAELIS, L. u. M.L. MENTEN:

Biochem. Z. 49, 333 (1913)

NACHMANSOHN, D.:

Ergebn. Physiol. 48, 575 (1955)

NETTER, H.:

Theoretische Biochemie, S. 586

Springer-Verlag, Berlin (1959)

ORTMANN, R.:

Verh. Dtsch. Ges. f. Kreislaufforsch. 25, 15 (1959)

PILLAT, B. u. P. HEISTRACHER:

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak. 246, 375 (1964)

VAN ROSSUM, J.M.:

J. Pharm. a. Pharmacol. 15, 285 (1963)

VAN ROSSUM, J.M. a. F.G. VAN DEN BRINK

Arch. int. Pharmacodyn. 143, 240 (1963)

WASER, P.G.:

Schweiz. Med. Wschr. 87, 577 (1957)

Abschließend möchte ich Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Karl ZIPF für die freundliche Überlassung des Themas und des Arbeitsplatzes in seinem Institut sowie für das jederzeit entgegengebrachte Interesse herzlich danken.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr. A. PETTER für seine jederzeit gewährte volle Unterstützung für das Gelingen der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 27. August 1937 wurde ich in Aachen als Sohn des Landwirtes Josef Zintzen und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Kohl, geboren.

Vom Jahr 1944 bis zum Jahre 1948 besuchte ich die Volksschule in Aachen-Lichtenbusch und trat dann in die Sexta des Kaiser-Karl-Gymnasiums in Aachen ein. Ich besuchte die humanistische Anstalt neun Jahre und legte am 12. März 1957 die Reifeprüfung ab.

Im Herbst 1958 begann ich das Studium der Tiermedizin in München. Zwei klinische Semester hörte ich in Wien und Hannover. Im Sommersemester 1963 beendete ich das Studium mit dem Staatsexamen.

Die Bestallung als Tierarzt erhielt ich am 15. Mai 1964.

